

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

PAOLA MARIA BROLIN SANTIS-ISOLAN

**ENXERTO HOMÓLOGO CONGELADO DE DIAFRAGMA NA
CORREÇÃO DOS DEFEITOS DA PAREDE ABDOMINAL DE RATOS -
ESTUDO TENSIMÉTRICO, MORFOMÉTRICO E
IMUNOHISTOQUÍMICO**

**CURITIBA
2009**



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CLÍNICA CIRÚRGICA
NÍVEL MESTRADO - DOUTORADO

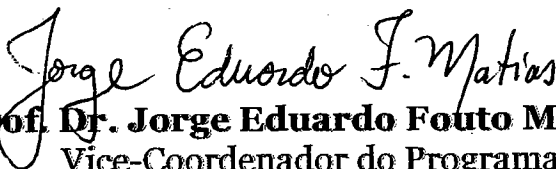
DECLARAÇÃO

Declaro, que a aluna **Paola Maria Brolin Santis Isolan**, completou os requisitos necessários para obtenção do Grau Acadêmico de Doutora em Clínica Cirúrgica, ofertado pela Universidade Federal do Paraná.

Para obtê-los, concluiu os créditos didáticos previstos no Regimento do Programa e apresentou sua tese sob título **AValiação DO USO DE ENXERTO HOMÓLOGO CONGELADO DE DIAFRAGMA NA CORREÇÃO DOS DEFETOS DA PAREDE ABDOMINAL DE RATOS - ESTUDO TENSIO MÉTRICO, MORFOMÉTRICO IMUNOHISTOQUÍMICO.**

A tese foi defendida nesta data e aprovada pela Banca Examinadora composta pelos Professores Doutores Jose Carlos Soares Fraga, Jurandir Marcondes Ribas Filho, Marcelo Marcondes Stegani, Isabel Cristina Meister Coelho Lemos - Membros e Antônio Ernesto da Silveira - Presidente.

E, por ser verdade, firmo a presente.
Curitiba, 03 de setembro de 2009.


Prof. Dr. Jorge Eduardo Fouto Matias
Vice-Coordenador do Programa



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CLÍNICA CIRÚRGICA
NÍVEIS: MESTRADO E DOUTORADO

Ata do julgamento da 127ª Tese de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica da Universidade Federal do Paraná, referente a aluna **Paola Maria Brolin Santis Isolan** sob o Título AVALIAÇÃO DO USO DE ENXERTO HOMÓLOGO CONGELADO DE DIAFRAGMA NA CORREÇÃO DOS DEFEITOS DA PAREDE ABDOMINAL DE RATOS - ESTUDO TENSIO MÉTRICO, MORFOMÉTRICO IMUNOHISTOQUÍMICO, na **Linha de Pesquisa:** AVALIAÇÃO ANÁTOMO-FUNCIONAL DOS TRANSPLANTES DE ÓRGÃOS SÓLIDOS E TECIDOS. **Área de Concentração:** Clínica Cirúrgica, tendo como orientador Prof. Dr. Miguel Ângelo Agulham

Às sete horas e trinta minutos do dia três de setembro de dois mil e nove, no Auditório do 13º andar do prédio central do Hospital de Clínicas, reuniu-se, em sessão pública, a Banca Examinadora de Avaliação composta pelos Professores Doutores Jose Carlos Soares Fraga, Jurandir Marcondes Ribas Filho, Marcelo Marcondes Stegani, Isabel Cristina Meister Coelho Lemos e Antônio Ernesto da Silveira sendo este último Presidente da Banca. Aberta a sessão, foi apresentada pelo Prof. Dr. Jorge Eduardo Fouto Matias, Vice-Coordenador do Programa, a documentação probatória do cumprimento pela candidata das exigências legais que lhe facultam submeter-se à avaliação da tese, como última etapa à sua titulação no Programa. A seguir o Presidente da Banca Examinadora convidou a candidata a apresentar oralmente resumo de sua tese no prazo máximo de trinta minutos para demonstração de sua capacidade didática e para melhor conhecimento do tema por parte da audiência composta de professores, médicos, alunos, familiares e demais interessados. Seguiu-se a arguição e imediata resposta pelo candidato, sucessivamente pelos componentes da Banca Examinadora. Obedecido o tempo máximo de vinte minutos para a arguição e igual tempo para cada resposta. Terminada a etapa de arguição, reuniu-se a Banca Examinadora em sala reservada para atribuição das notas, dos conceitos e lavratura do Parecer Conjunto. A candidata foi **APROVADA** considerando-se os parâmetros vigentes estabelecidos pelo programa e regidos pela legislação pertinente da instituição. Voltando à sala de sessão, o Senhor Presidente da Banca Examinadora leu os conceitos do Parecer Conjunto e deu por encerrada a sessão. E para que tudo conste, foi lavrada a presente Ata, que será assinada pelos seguintes componentes da Banca Examinadora.

Jose Carlos Soares Fraga

Marcelo Marcondes Stegani

Jurandir Marcondes Ribas Filho

Isabel Cristina Meister Coelho Lemos

Antônio Ernesto da Silveira



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CLÍNICA CIRÚRGICA
NÍVEL MESTRADO - DOUTORADO

**PARECER CONJUNTO DA BANCA EXAMINADORA
DA AVALIAÇÃO DA DEFESA DE DOUTORADO**

Aluna **Paola Maria Brolin Santis Isolan**

Título da Tese: AVALIAÇÃO DO USO DE ENXERTO HOMÓLOGO
CONGELADO DE DIAFRAGMA NA CORREÇÃO DOS DEFEITOS DA PAREDE
ABDOMINAL DE RATOS - ESTUDO TENSIO MÉTRICO, MORFOMÉTRICO
IMUNOHISTOQUÍMICO.

CONCEITOS EMITIDOS:

Prof.Dr. Jose Carlos Soares Fraga	conceito emitido	A	equivalência	10,0
Prof.Dr. Jurandir Marcondes Ribas Filho	conceito emitido	A	equivalência	10,0
Prof. Dr. Marcelo Marcondes Stegani	conceito emitido	A	equivalência	10,0
Profa.Dra. Isabel Cristina M. C. Lemos	conceito emitido	A	equivalência	10,0
Prof. Dr. Antônio Ernesto da Silveira	conceito emitido	A	equivalência	10,0

Conceito Final de Avaliação:

Conceito: A Equivalência: 10,0

Curitiba, 03 de setembro de 2009.

Prof.Dr. Jose Carlos Soares Fraga

Prof.Dr. Jurandir Marcondes Ribas Filho

Prof. Dr. Marcelo Marcondes Stegani

Profa.Dra. Isabel Cristina M. C. Lemos

Prof. Dr. Antônio Ernesto da Silveira

Assinaturas manuscritas das membros da banca examinadora.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

PAOLA MARIA BROLIN SANTIS-ISOLAN

**ENXERTO HOMÓLOGO CONGELADO DE DIAFRAGMA NA
CORREÇÃO DOS DEFEITOS DA PAREDE ABDOMINAL DE RATOS -
ESTUDO TENSIO MÉTRICO, MORFOMÉTRICO E
IMUNOHISTOQUÍMICO**

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do Grau Acadêmico de Doutor.

**Orientador: Prof. Dr. Miguel A. Agulham
Co-orientador: Prof. Dr. Gustavo R. Isolan
Coordenador: Prof. Dr. Jorge E. F. Mathias**

**CURITIBA
2009**

Santis-Isolan, Paola Maria Brolin

Enxerto homólogo congelado de diafragma na correção dos defeitos da parede abdominal de ratos – estudo tensiométrico, morfométrico e imunohistoquímico / Paola Maria Brolin Santis-Isolan. Curitiba, 2009.

158 f. il.

Orientador: Prof. Dr. Miguel Agulham.

Tese (Doutorado em Clínica Cirúrgica) – Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná.

1.Cicatrização de feridas. 2.Transplante homólogo. 3.Diafragma. 4.Parede abdominal. 5.Ratos. I.Título.

NLM: WO 660

Aos meus pais, Jorge e Maria, incansáveis incentivadores, sempre prontos para uma palavra de ânimo e de alegria.

A meus irmãos, cunhadas e sobrinhos, Jorge e Rodrigo, Poliana e Larissa, Giuseppe, Matheus e Arthur pela amizade que nos une para sempre.

Ao meu marido, Gustavo, mais que um companheiro, um exemplo de dedicação à pesquisa, à medicina e ao paciente, sua ajuda foi fundamental, não somente pela paciência e incentivo, mas também pela colaboração direta em cada fase desta pesquisa, suportando todos as intercorrências e alegrias do começo de uma nova família.

Ao Senhor Deus, fonte de força e inspiração para minha vida.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Miguel Ângelo Agulham, orientador desta tese, profissional admirável pela sua competência e dedicação. Sua postura séria e empática tornou-se um sólido alicerce que norteia muito dos meus atos como médica.

Ao Prof. Dr. Jorge Eduardo Fouto Matias, coordenador da pós-graduação em Clínica Cirúrgica da Universidade Federal do Paraná, pela oportunidade de participar de um excelente curso.

Ao Prof. Dr. Osvaldo Malafaia, coordenador do IPEM, pela oportunidade concedida para freqüentar e desenvolver a parte experimental desta pesquisa nas dependências do IPEM.

Ao Serviço de Cirurgia Pediátrica do Hospital de Clínicas de Curitiba, na pessoa do Prof. Dr. Antônio Ernesto da Silveira, ex-chefe do serviço, exemplo de honestidade, bondade e habilidade, bem como a todos os professores e médicos do serviço (Dr. Cesar Sabbaga, Dra. Marlene Almeida, Dr. Miguel A. Agulham, Dr. Cláudio Schultz, Dr. Sylvio Avilla, Dr. Miguel A. Andrade, Dr. Antônio Amarante, Dr. Wilmington Cosenza, Dr. Marcelo Stegani, Dr. José Luiz Godoy, Dra. Josiane Bernardes), por terem me oferecido a oportunidade de excelente formação, bem como conhecer e desenvolver os conhecimentos neste universo fantástico que é a cirurgia infantil.

Aos médicos patologista Carlos Gustavo Hirth e Larissa Luvizon Gomes da Silva, pelo importante auxílio na análise histopatológica das amostras estudadas nesta tese. Bem como ao técnico Mauricio Oliveira e à bióloga Marina Luise Viola de Azevedo pela ajuda precisa e desprendimento.

Ao laboratório de cirurgia experimental e biotério do IPEM, principalmente, ao Sr. João Brito de Freitas, auxiliar do biotério, pelo auxílio essencial durante a etapa experimental desta pesquisa.

Ao Banco de Ossos e Tecidos do Hospital de Clínicas de Curitiba, em especial ao Prof. Dr. Paulo Alencar e a bióloga Danielle Silva, e a todos os

funcionários pela oportunidade de utilizar as excelentes instalações e apoio fundamental para o desenvolvimento deste trabalho.

Aos profissionais dos Cursos de Pós-graduação do IPEM e do HC, pela seriedade e dedicação em relação à Pós-graduação e por estarem sempre dispostos a ajudar.

Aos alunos da graduação da Universidade Federal do Paraná e monitores da disciplina de Cirurgia Pediátrica, Josias Matei e Midiã Vergara, pelos esforços conjuntos na confecção desta tese.

Ao Hospital de Clínicas do Paraná e Universidade Federal do Paraná e ao IPEM/HUEC/FEPAR, imprescindíveis para a realização deste trabalho.

Ao engenheiros do LACTEC, Luiz Eduardo Caron e Sérgio Luiz Henke, responsáveis pelo Departamento de Materiais, e ao técnico Sérgio Widelin Santos pelo auxílio na utilização das instalações.

À Professora de Língua Portuguesa Izabela Ayub, pela revisão gramatical.

À bibliotecária do Setor de Ciências da Saúde Áurea Maria Costin, pela revisão da editoração.

Ao Prof. Dr. Marcelo Vetori, físico, pelas importantes noções e explanações referentes ao material utilizado para realização da tensitometria.

Ao professor de língua inglesa Rodrigo Alwada, pelo auxílio na correção do *abstract*.

Aos amigos que sempre me deram apoio, não somente no transcurso desta tese, mas desde que nos conhecemos.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ) pelo incentivo e apoio financeiro para a realização deste estudo.

*“Não sei... se a vida é curta
ou longa demais pra nós,
Mas sei que nada do que vivemos
tem sentido, se não tocamos o coração das
pessoas.*

*Muitas vezes basta ser:
Colo que acolhe,
Braço que envolve,
Palavra que conforta,
Silêncio que respeita,
Alegria que contagia,
Lágrima que corre,
Olhar que acaricia,
Desejo que sacia,
Amor que promove.*

*E isso não é coisa de outro mundo,
é o que dá sentido à vida.
É o que faz com que ela
não seja nem curta,
nem longa demais,
Mas que seja intensa,
verdadeira, pura...
Enquanto durar”*

CORA CORALINA

RESUMO

As investigações por materiais para reconstrução da parede abdominal sugerem que as complicações das próteses atualmente utilizadas ainda são inaceitáveis e o material ideal ainda não foi descoberto. Realizou-se avaliação morfológica, biomecânica e imunohistoquímica do enxerto homólogo congelado de diafragma para correção de defeito da parede abdominal em ratos. Os animais foram divididos em controle (50 ratos *Wistar*) e experimento (60 ratos *Wistar*). Os ratos do grupo controle foram submetidos à laparotomia mediana e sutura da parede abdominal, já os animais do grupo experimento foram submetidos à ressecção da parede abdominal e reconstrução da mesma com enxerto homólogo congelado de diafragma. Os animais foram submetidos à eutanásia no sétimo, 14º, 21º, 90º, 180º dias de pós-operatório (PO) e avaliados quanto a presença de complicações, integridade do enxerto, presença de aderências, avaliações tensiométrica, histopatológica e imunohistoquímicas com H/E, *sirius-red* (colágeno tipo I e III), HHF-35, Actina Sarcomérica e Calponina. Verificaram-se integridade do enxerto, ausência de complicações PO, bem como, ausência de diferença estatisticamente significativa entre os grupos quanto à presença de aderências em todos os animais. Observou-se maior força máxima, força de ruptura e tensão nos animais do grupo experimento no 90º dia de PO ($p<0,05$). Na análise histopatológica houve predomínio de PMN nas fases precoces da cicatrização (subgrupo sete dias do grupo experimento e 21 dias no grupo controle) e de MMN nas fases tardias (subgrupo 180 dias do grupo experimento e 21 dias do grupo controle), todos com $P<0,05$. Houve predomínio de colágeno tipo I ($p<0,05$) e tipo III ($p<0,001$) nos subgrupo 7 e 21 dias de PO nos grupos controle e experimento, respectivamente. Houve maior positividade para HHF-35 nos subgrupos sete e 90 dias do grupo experimento ($P<0,05$). A Actina Sarcomérica foi positiva em todas as amostras, confirmando a existência de tecido muscular esquelético no enxerto, tendo predomínio, estatisticamente significativo, nos subgrupos sete ($p<0,05$) e 21 dias (entre 14 e 21 dias $p<0,001$). A Calponina mostrou ser ótimo marcador de miofibroblastos na avaliação da cicatrização da parede abdominal, sendo predominante no subgrupo sete e 21 dias do grupo controle ($P<0,01$). O enxerto homólogo congelado de diafragma mostrou ser excelente alternativa no reparo de grandes defeitos da parede abdominal em ratos, pois apresentou ausência de complicações pós-operatórias, ótima integridade, baixo índice de aderência, boa cicatrização, manutenção das variáveis de tensão e percentual de colágeno, e regeneração muscular.

Palavras-chave: Cicatrização de feridas; Transplante homólogo; Diafragma; Parede abdominal; Rato

ABSTRACT

Continuing investigations of abdominal wall reconstruction materials suggest that unacceptable implant complications continue and that the ideal material has not yet been found. Diaphragmatic homograft freeze has been studied for body wall repair and compared with control group. It was used 110 female Wistar rats to do longitudinal laparotomies (control group) and large patch of abdominal wall was resected (4 X 4 cm) and the animals underwent reconstruction with homologous freeze diaphragm graft (experimental group). The animals were evaluated histologically and immunohistochemical with H/E, Picrosirius Red, HHF-35, Sarcomeric Actin, Calponin and tensiometric evaluation. Rats were euthanized at 7, 21, 90 and 180 days after surgery. Adhesions 0 and I were present in the animals of both groups. All tensiometric forces were greater in the experimental group at 90 days after surgery ($p < 0,05$). The polymorphonuclear cells were higher on day 7 (control group) and 21 (experimental group) and monomorphonuclear cells were higher on day 180 (group experimental) and 21 (control group), with $P < 0,05$. The percentage of mature collagen (I) and immature collagen (III) were significantly greater at 7 and 21 days after surgery in control and experimental groups respectively ($p < 0,05$). The HHF-35 value was higher on days 7 and 90 ($p < 0,05$), while Sarcomeric Actin was higher on days 7 ($0 < 0,05$) and 21 ($p < 0,001$), both in experimental group to confirm the presence of skeletal muscle on graft. Calponin demonstrated to be a great smooth muscle marker, mainly myofibroblastic marker, being predominant ($p < 0,05$) in control group on day 21 after surgery. We concluded that homologous freeze diaphragm graft can be an alternative to repair the defects of abdominal wall.

Key words: Wound healing. Abdominal wall. Transplantation, homologus. Diaphragm. Rats.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1	FASES DA CICATRIZAÇÃO.....	36
FIGURA 2	FASES DO PROCESSO DE CICATRIZAÇÃO MUSCULAR.....	38
FIGURA 3	FASE DE REPARO DO PROCESSO DE CICATRIZAÇÃO MUSCULAR.....	39
FIGURA 4	FORMAÇÃO DA FIBRA MUSCULAR ESQUELÉTICA.....	41
FIGURA 5	CONFECÇÃO DO ENXERTO ALÓGRAFO HOMÓLOGO DE DIAFRAGMA.....	51
FIGURA 6	DIÉRESE DOS PLANOS DA PAREDE ABDOMINAL EM ANIMAL DO GRUPO CONTROLE.....	53
FIGURA 7	DEFEITO DA PAREDE ABDOMINAL EM ANIMAL DO GRUPO EXPERIMENTO.....	54
FIGURA 8	CORREÇÃO DO DEFEITO DA PAREDE ABDOMINAL COM ENXERTO ALÓGRAFO HOMÓLOGO DE DIAFRAGMA.....	55
FIGURA 9	DIVISÃO DOS FRAGMENTOS ESTUDADOS.....	58
FIGURA 10	PREPARO DO ENXERTO PARA ESTUDO DA TRAÇÃO.....	60
FIGURA 11	MÁQUINA DE TRAÇÃO.....	60
FIGURA 12	ESQUEMA DE CONFECÇÃO DAS LÂMINAS <i>TISSUE MICROARRAY</i> ARTESANAL(TMA).....	64
FIGURA 13	CONTAGEM DE CALPONINA UTILIZANDO O PROGRAMA DE IMAGEM PRO PLUS. O TECIDO MUSCULAR LISO CORADO EM MARROM É RECONHECIDO E MARCADO COM CURSOR DO COMPUTADOR EM MARROM VIVO.....	67
FIGURA 14	SCORE DE ADERÊNCIA GRAU I EM RATO DO GRUPO EXPERIMENTO APÓS 90 DIAS DE PÓS OPERATÓRIO.....	70
FIGURA 15	FOTOMICROGRAFIA DE CORTE HISTOLÓGICO DE PAREDE ABDOMINAL CORADO PELO PICROSÍRIUS (AUMENTO DE 20 VEZES) EM RATO DO GRUPO CONTROLE, SUBGRUPO CD. IDENTIFICADO O PREDOMÍNIO DE COLÁGENO TIPO III.....	83
FIGURA 16	FOTOMICROGRAFIA DE CORTE HISTOLÓGICO DE	

	PAREDE ABDOMINAL DE RATO CORADO PELO PICROSÍRIUS (AUMENTO DE 20 VEZES), GRUPO EXPERIMENTO, SUBGRUPO EE. IDENTIFICADO PREDOMÍNIO DE COLÁGENO TIPO I.....	84
FIGURA 17	FOTOMICROGRAFIA DE CORTE HISTOLÓGICO DE PAREDE ABDOMINAL DE RATO CORADO PELO HHF-35 (AUMENTO DE 20 VEZES), GRUPO EXPERIMENTO, SUBGRUPO EB.....	90
FIGURA 18	FOTOMICROGRAFIA DE CORTE HISTOLÓGICO DE PAREDE ABDOMINAL DE RATO CORADO PELA ACTINA SARCOMÉRICA (AUMENTO DE 20 VEZES).....	92
FIGURA 19	FOTOMICROGRAFIA DE CORTE HISTOLÓGICO DE PAREDE ABDOMINAL DE RATO CORADO PELA CALPONINA (AUMENTO DE 20 VEZES) E DETALHE EM AUMENTO DE 40X DA AREA CORADA (POSITIVIDADE PARA MIOFIBROBLASTO).....	95

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1	AVALIAÇÃO DA FORÇA MÁXIMA NOS GRUPOS EXPERIMENTO E CONTROLE.....	72
GRÁFICO 2	AVALIAÇÃO DA FORÇA DE RUPTURA NOS GRUPOS EXPERIMENTO E CONTROLE.....	73
GRÁFICO 3	AVALIAÇÃO DA TENSÃO NOS GRUPOS EXPERIMENTO E CONTROLE.....	74
GRÁFICO 4	AVALIAÇÃO DOS POLIMORFONUCLEARES NOS GRUPOS EXPERIMENTO E CONTROLE.....	76
GRÁFICO 5	AVALIAÇÃO DOS MONOMORFONUCLEARES NOS GRUPOS EXPERIMENTO E CONTROLE.....	79
GRÁFICO 6	AVALIAÇÃO DO COLÁGENO TIPO I NOS GRUPOS EXPERIMENTO E CONTROLE.....	81
GRÁFICO 7	AVALIAÇÃO DA DISTRIBUIÇÃO DO COLÁGENO TIPO III NOS GRUPOS EXPERIMENTO E CONTROLE.....	82
GRÁFICO 8	AVALIAÇÃO DO ÍNDICE DE MATURAÇÃO DO COLÁGENO NOS GRUPOS EXPERIMENTO E CONTROLE.....	86
GRÁFICO 9	AVALIAÇÃO DO HHF-35 NOS GRUPOS EXPERIMENTO E CONTROLE.....	89
GRÁFICO 10	AVALIAÇÃO DA ACTINA SARCOMÉRICA NOS GRUPOS EXPERIMENTO E CONTROLE.....	92
GRÁFICO 11	AVALIAÇÃO DA CALPONINA NOS GRUPOS EXPERIMENTO E CONTROLE.....	94

LISTA TABELAS

TABELA 1	ESCORE DE ADERÊNCIAS DA AMOSTRA	69
TABELA 2	COMPARAÇÃO DE FORÇA MÁXIMA ENTRE OS GRUPOS..	71
TABELA 3	COMPARAÇÃO DE FORÇA MÁXIMA ENTRE OS SUBGRUPOS.....	71
TABELA 4	COMPARAÇÃO DE FORÇA DE RUPTURA ENTRE OS GRUPOS.....	73
TABELA 5	COMPARAÇÃO DE TENSÃO ENTRE OS GRUPOS	74
TABELA 6	COMPARAÇÃO DE FORÇA DE RUPTURA ENTRE OS SUBGRUPOS.....	75
TABELA 7	COMPARAÇÃO DE TENSÃO ENTRE OS SUBGRUPOS.....	75
TABELA 8	AVALIAÇÃO DOS POLIMORFONUCLEARES ENTRE OS GRUPOS.....	77
TABELA 9	AVALIAÇÃO DOS POLIMORFONUCLEARES ENTRE OS SUBGRUPOS.....	77
TABELA 10	AVALIAÇÃO DOS MONOMORFONUCLEARES ENTRE OS SUBGRUPOS.....	78
TABELA 11	ANÁLISE DOS MONOMORFONUCLEARES ENTRE OS SUBGRUPOS.....	78
TABELA 12	AVALIAÇÃO DO COLÁGENO TIPO I ENTRE OS GRUPOS...	80
TABELA 13	AVALIAÇÃO DO COLÁGENO TIPO I ENTRE OS SUBGRUPOS.....	80
TABELA 14	AVALIAÇÃO DO COLÁGENO TIPO III NOS GRUPOS	80
TABELA 15	AVALIAÇÃO DO COLÁGENO TIPO III ENTRE OS SUBGRUPOS.....	81
TABELA 16	DISTRIBUIÇÃO DAS FREQUÊNCIAS E PERCENTUAIS DA CLASSIFICAÇÃO IMaC NOS GRUPOS E SUBGRUPOS.....	85
TABELA 17	AVALIAÇÃO DO IMaC ENTRE OS SUBGRUPOS.....	85
TABELA 18	AVALIAÇÃO DO IMaC ENTRE OS GRUPOS	86
TABELA 19	VALORES DO IMaC CORRIGIDOS PELA FÓRMULA DE BONFERRONI	87
TABELA 20	AVALIAÇÕES DO IMaC NOS GRUPOS E SUBGRUPOS	

	CORRIGIDOS	PELA	FÓRMULA	DE	
	BONFERRONI.....				87
TABELA 21	AVALIAÇÃO DO HHF – 35 ENTRE OS GRUPOS.....				88
TABELA 22	AVALIAÇÃO DO HHF – 35 ENTRE O SUBGRUPOS.....				89
TABELA 23	AVALIAÇÃO DA ACTINA SARCOMÉRICA ENTRE OS GRUPOS.....				91
TABELA 24	AVALIAÇÃO DA ACTINA SARCOMÉRICA ENTRE OS SUBGRUPOS.....				91
TABELA 25	AVALIAÇÃO DA CALPONINA ENTRE OS GRUPOS.....				93
TABELA 26	AVALIAÇÃO DA CALPONINA ENTRE OS SUBGRUPOS.....				94
TABELA 27	CORRELAÇÃO ENTRE AS VARIÁVEIS NOS GRUPOS E SUBGRUPOS.....				98

LISTA DE ABREVIATURAS

AATB	<i>American Association of Tissue Banks</i> / Associação Americana de Banco de Tecidos
ACM	<i>Acellular Matrix</i> / Matriz Acelular
CBM	<i>Collagen-based Material</i> / Material Derivado de Colágeno
CCD	<i>Charge Coupled Device</i>
COBEA	Colégio brasileiro de Experimentação Animal
DNA	Ácido Desoxirribonucléico
ECM	<i>Extracellular matrix</i> / matriz extracelular
e-PTFE	Politetrafluoretileno Expandido
FEPAR	Faculdade Evangélica do Paraná
H/E	hematoxilina e eosina
HUEC	Hospital Universitário Evangélico de Curitiba
HC	Hospital de Clínicas
IE	Teste de ELISA ou Imunoenzimático
IHQ	Imunohistoquímica
IMaC	Índice de Maturação do Colágeno
IPEM	Instituto de Pesquisas Médicas
LACTEC	Laboratório de Ensaios Mecânicos do Instituto de Tecnologia e Desenvolvimento do Paraná
Mpa	Mega Pascal
MHz	MegaHertz
N	unidade de força Newton
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i> / Reação em Cadeia de Polimerase
RCM	<i>Renal Capsule Matrix</i> / Matriz de Cápsula Renal
RGB	<i>Red, Green, Blue</i> / vermelho, verde, azul
RNA	Ácido Ribonucleico
SIS	<i>Small Intestinal Submucosa</i> / Submucosa de Intestino Delgado
TECPAR	Instituto de Tecnologia do Paraná
UBS	<i>Urinary Bladder Submucosa</i> / Submucosa de Bexiga Urinária
UTI	Unidade de Terapia Intensiva
PO	Pós-operatório

LISTA DE SIGLAS

anti-HB	<i>Antibody anti Hepatitis B Core Antigen</i> / Anticorpo contra Antígeno do Núcleo do Vírus da Hepatite B
anti-HCV	<i>Antibody anti Hepatitis C Antigen</i> / Anticorpo contra Antígeno do Vírus da Hepatite C
anti-HIV 1	<i>Antibody Anti Human Immunodeficiency Virus Type 1</i> / Anticorpo Anti Vírus da Imunodeficiência Adquirida Tipo 1
anti-HIV 2	<i>Antibody Anti Human Immunodeficiency Virus Type 2</i> / Anticorpo Anti Vírus da Imunodeficiência Adquirida Tipo 2
anti-HTLV I e II	<i>Antibody Anti Human T-cell Lymphocitotropic Virus type I e II</i> / Anticorpo Anti Vírus Linfotrópico de Células T Humano I e II
ELISA	<i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i> / Ensaio Imunoenzimático
HAI	Hemaglutinação Indireta
HbsAg	<i>Hepatitis B Surface Antigen</i> / Antígeno de Superfície do Vírus da Hepatite B
p24	proteína de 24 kilodaltons
TMS –1	<i>Polyurethane-Polypropylene Composite Material</i> / Material Composto de Poliuretano-Polipropileno
VDRL	<i>Venereal Disease Research Laboratory Slide Test</i> / Teste Laboratorial para Pesquisa de Doenças Venéreas

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	18
1.1	OBJETIVOS.....	20
2	REVISÃO DE LITERATURA	21
2.1	DEFEITOS DA PAREDE ABDOMINAL	21
2.1.1	Onfalocele e gastrosquise.....	21
2.1.2	Hérnias ventrais	22
2.2	HISTÓRICO DOS TRATAMENTOS DOS DEFEITOS DA PAREDE ABDOMINAL.....	23
2.3	ENXERTOS HOMÓLOGOS.....	31
2.3.1	Enxertos frescos.....	31
2.3.2	Enxertos congelados a seco	32
2.3.3	Enxertos congelados.....	32
2.4	CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS DOS ENXERTOS HOMÓLOGOS CONGELADOS.....	32
2.5	UTILIZAÇÃO DE ENXERTOS HOMÓLOGOS.....	33
2.6	CICATRIZAÇÃO.....	34
2.6.1	A cicatrização no tecido muscular.....	37
2.6.2	Colágeno.....	41
2.6.3	Avaliação da cicatrização.....	43
2.6.4	Imunohistoquímica.....	44
2.6.5	<i>Tissue Microarray</i>	44
2.6.6	Anticorpos monoclonais actínicos.....	46
2.6.6.1	HHF-35.....	47
2.6.6.2	Actina sarcomérica.....	47
2.6.6.3	Calponina.....	47
3	MATERIAIS E MÉTODOS.....	49
3.1	ANIMAL DE ESTUDO.....	49
3.2	DIVISÃO DA AMOSTRA.....	50
3.2.1	Grupo experimento.....	50
3.2.2	Grupo controle.....	50
3.3	FONTE DOS ENXERTOS HOMÓLOGOS ALÓGRAFOS OU	

	ALOENXERTOS.....	50
3.4	PROCESSAMENTO E CONSERVAÇÃO DOS ENXERTOS.....	51
3.5	ANESTESIA.....	52
3.6	PROCEDIMENTO PRÉ-OPERATÓRIO.....	52
3.7	PROCEDIMENTO CIRÚRGICO.....	52
3.7.1	Grupo controle.....	52
3.7.2	Grupo experimento.....	53
3.8	PROCEDIMENTO PÓS-OPERATÓRIO.....	55
3.9	AVALIAÇÃO DIÁRIA.....	55
3.10	EUTANÁSIA DOS ANIMAIS.....	56
3.11	AVALIAÇÃO INICIAL.....	56
3.12	AVALIAÇÃO MACROSCÓPICA.....	56
3.13	PREPARO DOS FRAGMENTOS PARA ESTUDO.....	57
3.14	AVALIAÇÃO DA RESISTÊNCIA.....	59
3.15	AVALIAÇÃO MICROSCÓPICA.....	61
3.15.1	Técnica de hematoxilina-eosina.....	61
3.15.2	Morfometria do colágeno.....	61
3.15.3	<i>Tissue Microarray Artesanal (TMA)</i>	63
3.15.4	Avaliação imunohistoquímica.....	65
3.16	DELINEAMENTO.....	67
3.17	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	67
4	RESULTADOS	69
4.1	AVALIAÇÃO DAS COMPLICAÇÕES CIRÚRGICAS.....	69
4.2	AVALIAÇÃO DA INTEGRIDADE DO ENXERTO.....	69
4.3	AVALIAÇÃO DAS ADERÊNCIAS.....	69
4.4.	AVALIAÇÃO DAS MEDIDAS TENSIO MÉTRICAS.....	70
4.5	AVALIAÇÃO HISTOPATOLÓGICA.....	76
4.6	AVALIAÇÃO DO COLÁGENO.....	79
4.7	AVALIAÇÃO IMUNOHISTOQUÍMICA DOS MARCADORES ACTÍNICOS.....	88
4.7.1	Avaliação da presença de tecido muscular.....	88
4.7.1.1	HHF – 35	88
4.7.1.2	Actina sarcomérica.....	90

4.7.1.3	Avaliação do tecido muscular liso/ miofibroblastos.....	93
4.7.1.3.1	Calponina.....	93
4.8	CORRELAÇÃO ENTRE AS VARIÁVEIS.....	96
5	DISCUSSÃO	100
5.1	A AMOSTRA.....	100
5.2	O BANCO DE TECIDOS.....	100
5.3	ANESTESIA.....	102
5.4	OS PERÍODOS DE AVALIAÇÃO DOS RESULTADOS.....	103
5.5	ESCOLHA DO GRUPO CONTROLE.....	103
5.6	AVALIAÇÃO DA CICATRIZAÇÃO.....	104
5.7	<i>TISSUE MICROARRAY</i> ARTESANAL (TMA).....	105
5.8	AVALIAÇÃO DOS MIOFIBROBLASTOS.....	105
5.9	O DELINEAMENTO DO ESTUDO.....	107
5.10	A RESPEITO DOS RESULTADOS.....	107
5.10.1	Complicações cirúrgicas.....	107
5.10.2	Integridade do enxerto.....	108
5.10.3	Aderências.....	108
5.10.4	Medidas tensiométricas.....	109
5.10.5	Análise histopatológica.....	111
5.10.6	Análise do colágeno.....	113
5.10.7	Análise dos imunomarcadores para actina.....	114
5.10.7.1	HHF – 35.....	114
5.10.7.2	Actina sarcomérica.....	115
5.10.7.3	Calponina.....	116
5.10.8	Correlação entre os desfechos.....	116
5.11	PERSPECTIVAS.....	118
6	CONCLUSÕES	120
	REFERÊNCIAS	122
	APÊNDICES	141

1 INTRODUÇÃO

O reparo cirúrgico dos grandes defeitos congênitos ou adquiridos da parede abdominal sempre foi um grande desafio para os cirurgiões, uma vez que, além das adversas condições clínicas do paciente, não existe técnica cirúrgica ideal, tampouco estudos comparativos com alto grau de evidência clínico-epidemiológica que validem um tipo de procedimento cirúrgico sobre os demais. As principais doenças congênitas que acometem a parede abdominal são a onfalocele e a gastrosquise (CHITTY; ISKAROS, 1996; DRIVER *et al.*, 2000). Por outro lado, as hérnias ventrais são uma das principais enfermidades adquiridas da parede abdominal (HADDAD, 1968; LARSON; VANDERTOLL, 1984).

Denomina-se onfalocele a anomalia de persistência da hérnia do conteúdo abdominal na parte proximal do cordão umbilical, resultante do não retorno do intestino à cavidade abdominal em torno da décima semana de vida intra-uterina. Além disso, o saco herniário permanece coberto pelo epitélio do cordão umbilical, um derivado do âmnio (CORREIA-PINTO *et al.*, 2002).

O termo gastrosquise, que literalmente significa estômago fendido ou aberto, é um defeito no fechamento da parede abdominal que, usualmente, ocorre do lado direito, próximo ao plano mediano, sendo esta falha resultante do fechamento incompleto das pregas laterais durante a quarta semana de vida intra-uterina (DAVENPORT *et al.*, 2001).

As hérnias ventrais são as resultadas de amplas ressecções do plano músculo-aponeurótico da parede abdominal devido a traumas, infecções, tumores ou múltiplas cirurgias (LUIJENDIJK *et al.*, 2000).

Enquanto as onfalocelas têm incidência de um para cada 10.000 nascidos vivos, as gastrosquises têm mostrado aumento de incidência na última década, de um caso a cada 20.000 para um caso a cada 4.000 recém natos (KOIVUSALO; LINDAHK; RINTALA, 2002). O prognóstico dos recém natos portadores de defeitos da parede abdominal tem melhorado de maneira significativa (SALOMON *et al.*, 2002). O aperfeiçoamento das técnicas cirúrgicas, a utilização de nutrição parenteral total e os avanços dos centros intensivos neonatais contribuíram para a sobrevida superior a 90% em cinco anos para portadores de onfalocele ou gastrosquise, conforme Vilela *et al.* (2001). Em relação às hérnias ventrais, considera-se que 4% a 10% das incisões abdominais anteriores resultarão nesta patologia (LARSON;

VANDERTOLL, 1984), principalmente, quando associadas à infecção, obesidade, desnutrição (POOLE, 1985) ou ao tipo de incisão cirúrgica (CARLSON, 1997).

O uso de próteses trouxe importante melhora na sobrevida dos portadores de defeitos da parede (RATH *et al.*, 1996). Porém, estes materiais não preenchem todos os critérios de biocompatibilidade, trazendo complicações a longo prazo e a necessidade de reoperações (SOIDERER *et al.*, 2004). Os materiais biológicos apresentam as características de biocompatibilidade, porém, têm maiores dificuldades técnicas e causam grandes defeitos no local doador, podendo cursar com distrofias e atrofia musculares (SILVERMAN *et al.*, 2004). Mesmo com todo o avanço tecnológico, tanto nas condutas de terapia intensiva, como nos procedimentos cirúrgicos, os grandes defeitos da parede abdominal permanecem como desafio para o cirurgião. O material ideal deveria ser musculotendinoso, evitando com isso a formação de hérnias ventrais, porém, sem gerar novas áreas de defeitos no paciente (ARNAUD *et al.*, 1977; DISA; KLEIN; GOLDBERG, 1996; DISA; KLEIN; GOLDBERG, 1998). Baseado nestas características, os tecidos armazenados nos bancos osteomusculares apresentam todas as qualidades de material ideal para o reparo dos grandes defeitos de parede abdominal (MAEDA *et al.*, 1997).

A possibilidade de contar com banco de tecidos que supra a necessidade de materiais biológicos para a correção de defeitos congênitos e adquiridos está sendo amplamente utilizado em várias especialidades, tais como ortopedia, neurocirurgia, cirurgia plástica e odontologia. A expansão de sua utilização alicerçou o vislumbrar de novas pesquisas em cicatrização relativas aos defeitos da parede abdominal (SHINO; HORIBE, 1991; STRICKLAND; MACGILLIVRAY; WARREN, 2003).

A cicatrização de uma incisão cirúrgica pode ser mensurada através de vários métodos os principais são citados a seguir. À análise histopatológica com hematoxilina/eosina (H/E) que quantifica as células da resposta inflamatória (SCHWENTKER; BILLIAR, 2003). À mensuração da tensiometria que determina a força necessária para romper uma cicatriz (NISHIRA; PRUDDEN, 1958; NARESSE *et al.*, 1987). À quantificação da proteína *Syrius Red* que mensura o colágeno (JUNQUEIRA; BIGNOLAS; BRETANI, 1979). À utilização de anticorpo monoclonais empregando técnicas de imunohistoquímica, como os marcadores para actina: HHF-35 (marcador para tecido muscular), Actina Sarcomérica (marcador para tecido muscular estriado esquelético) e Calponina (marcador para tecido muscular liso). A

utilização destes anticorpos permite não só analisar a presença do tecido muscular no enxerto e grupo controle, mas também, a regeneração deste tecido, bem como, o remodelamento do colágeno devido à presença indireta de miofibroblastos, permitindo assim, uma avaliação completa da cicatrização (HOSSAIN; JIN, 2009; HUANG *et al.*, 2008; TANG *et al.*, 2006; MENETREY *et al.*, 2000).

1.1 OBJETIVOS

A autora propôs modelo experimental inédito de correção de defeito da parede abdominal em ratos com interposição de enxerto homólogo congelado de diafragma oriundo de banco de tecidos. O grupo controle foi formado por ratos *Wistar* submetidos a laparotomia e sutura da parede abdominal. Ambos os grupos foram avaliados em 7, 14, 21, 90 e 180 dias de pós-operatório (PO).

Sendo o “fator de estudo” a parede abdominal, foram analisados e comparados os seguintes parâmetros:

1. Complicações pós-operatórias.
2. Integridade do enxerto.
3. Aderências.
4. Avaliação da resistência.
5. Análise histopatológica.
6. Morfometria do colágeno.
7. Avaliação imunohistoquímica das formas da actina:
 - 7.1 HHF-35.
 - 7.2 Actina Sarcomérica.
 - 7.3 Calponina.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 DEFEITOS DA PAREDE ABDOMINAL

2.1.1 Onfalocele e gastrosquise

A onfalocele e a gastrosquise são caracterizadas por exteriorização de alças intestinais e vísceras. Embora semelhantes entre si, são duas entidades distintas morfológica e embriologicamente (BORGSTEIN, 2001).

Enquanto na onfalocele as vísceras são recobertas por membranas translúcidas (âmnio e peritônio parietal), estando o cordão umbilical sempre no ápice do defeito, na gastrosquise o defeito abdominal é relativamente pequeno, localizado geralmente à direita do cordão umbilical não havendo membranas recobrindo as vísceras (WEIR, 2003; SANDLER *et al.*, 2004).

Da terceira à quarta semana de gestação o embrião cresce rapidamente enquanto o saco vitelino permanece estável. Isto faz com que a ampla comunicação do intestino primitivo com o saco vitelino diminua progressivamente até que, na quinta semana, a mesma se restringe ao que passa a ser conhecido como ducto onfalomesentérico (DAVIES; STRINGER, 1997). Nesta etapa da evolução embrionária ocorrem abrupto crescimento e alongamento do intestino médio, desproporcional ao corpo do embrião, resultando em exteriorização de maior parte do intestino através do umbigo (MAKSoud, 2004). Esta hérnia natural neste período embriológico permanece até a décima semana, quando a cavidade abdominal, crescendo de modo suficiente, recebe de volta as vísceras exteriorizadas. Nesta fase ocorre concomitante o fenômeno da rotação intestinal, que se completa ao redor da décima segunda semana de vida (IZANT; BROWN; ROTHMANN, 1966; MOORE; PERSAUD, 2000).

A ausência do retorno das vísceras à cavidade abdominal origina a onfalocele, geralmente acompanhada de rotação incompleta do intestino e ausência de fixação mesenterial (UGARTE *et al.*, 2004).

Por sua vez, a patogenia da gastrosquise é assunto controverso (TAN *et al.*, 1996). Postula-se tratar-se de um fenômeno teratogênico, decorrente da rotura precoce da somatopleura paraumbilical, ao nível da veia umbilical direita, que se encontra atrofiada (MOLIK *et al.*, 2001; REZENDE, 2004). Ocorre no local de

involução da segunda veia umbilical. Na fase em que o intestino primitivo cresce desproporcionalmente ocorre o prolapso deste através do defeito paraumbilical. O intestino continua seu desenvolvimento na cavidade amniótica banhado pelo líquido amniótico (TANNA; ROSANO; MASTROIACOVO, 2002; SANDLER *et al.*, 2004).

Qualquer que seja o defeito abdominal, a desproporção entre as vísceras exteriorizadas e o tamanho da cavidade abdominal determina o prognóstico (KIMBLE *et al.*, 2001). Afeta o prognóstico, também, a presença de malformações associadas: hérnia diafragmática, trissomias e cardiopatias congênitas (KOMURO *et al.*, 2001; KANAGAWA *et al.*, 2002).

2.1.2 Hérnias ventrais

A hérnia ventral é conceituada como a perda de continuidade do plano músculo-aponeurótico da região anterior do abdômen (SCHNEIDER, 1980). Classificam-se em parciais quando apresentam defeitos fáscio-músculo-aponeuróticos ou totais quando a pele se encontra ausente. As causas para a formação desta patologia podem ser divididas em alterações da cicatrização e a perda tecidual (SILVA *et al.*, 1991)

As herniações decorrentes de alterações cicatriciais de ferida cirúrgica prévia da parede abdominal anterior denominam-se hérnias incisionais ventrais. Larson e Vandertoll (1984) encontraram incidência variando entre 4% e 10% de todas as celiotomias. Luijendijk *et al.* (2000) apresentaram frequência de 11% a 20% no aparecimento de hérnias incisionais ventrais, enquanto Dubay e Franz (2003) citaram mais de 400.000 casos de hérnia incisionais diagnosticadas por ano nos Estados Unidos. Os fatores predisponentes incluem infecção de ferida operatória (HEGGERS, 2003), idade do paciente (WILHELMI; MOWLAVI, 2004), tipo de incisão (ADAMSONS; ENQUIST, 1963; CARLSON, 1997; LEMOS, 2002), obesidade (WILHELMI; BLACKWELL; PHILLIPS, 1999), má nutrição (WILLIAMS; BARBUL, 2003; BURNS, MANCOLL; PHILLIPS, 2003), anemia (WILHELMI; BLACKWELL; PHILLIPS, 1999), uso de esteróides (POOLE, 1985; NGUYEN; LIM; DRESNER, 1998; ANSTEAD, 1998), utilização de antiinflamatórios não hormonais (TOGNINI *et al.*, 1998; TOGNINI *et al.*, 2000). BURNS, MANCOLL e PHILLIPS (2003) definiram os fatores que interferem a cicatrização dos tecidos. (TABELA 1)

Na perda tecidual, a integridade, força tênsil e o contorno da parede ântero-lateral do abdômen são mantidas pelas camadas musculares e fasciais (BAYKAL *et al.*, 1997). A perda destas estruturas devido a infecções, traumas ou ressecção de tumor promove uma herniação através da falha nos tecidos moles, os quais, em alguns casos, apresentam-se como grandes defeitos da parede abdominal (CNOTA *et al.*, 1998). A reconstrução destes defeitos cursa com recidivas de até 40%, de acordo com os estudos Wilhelmi e Mowlavi (2004), variando conforme a técnica de tratamento utilizada.

2.2 HISTÓRICO DOS TRATAMENTOS DOS DEFEITOS DA PAREDE ABDOMINAL

No que diz respeito ao tratamento, tanto dos defeitos congênitos quanto dos adquiridos, a desproporção entre as vísceras exteriorizadas e a cavidade abdominal constitui o aspecto principal destas patologias (COMROE, 1998). Como conceito fundamental, quanto maior o defeito, maior a desproporção entre o conteúdo e a cavidade abdominal, mais difícil o tratamento, maior a morbidade e pior o prognóstico. O tratamento cirúrgico ideal é o fechamento primário, facilmente alcançado nos pequenos defeitos. Nos grandes defeitos, porém, a desproporção é de tal ordem que a redução do conteúdo gera alterações hemodinâmicas e respiratórias intensas causadas por aumento da pressão abdominal, compressão da veia cava inferior, dificuldade de retorno venoso, compressão do diafragma, dos órgãos intra-abdominais e diminuição da diurese (ENGUM *et al.*, 2002; THOMPSON; JAFFRAY, 2002; PEREIRA *et al.*, 2004). Estas conseqüências tornaram praticamente impossível o fechamento cirúrgico primário nos defeitos de média à grande extensão, constituindo o maior desafio no tratamento (LEE; PARK, 1969; TSAKAYANNIS, ZURAKOWSKI; LILLEHEI, 2003).

Os diferentes reparos cirúrgicos dos defeitos da parede abdominal sofreram melhorias entre as quais se destacam a nutrição parenteral, os cuidados pós-operatórios do recém-nascido e o domínio das técnicas de ventilação mecânica de neonatos (DRIVER *et al.*, 2000; PEREIRA *et al.*, 2004). A contribuição mais significativa, todavia, foi a compreensão das conseqüências hemodinâmicas relativas à redução do conteúdo abdominal sob pressão para o interior da cavidade abdominal (TSAKAYANNIS; ZURAKOWSKI; LILLEHEI, 1996; HOW *et al.*, 2000; ENGUM *et al.*, 2002; THOMPSON; JAFFRAY, 2002).

Na tentativa de correção das grandes onfaloceles foi proposto um método terapêutico conservador por AHLFELD¹ (1899), citado por SCHUSTER (1967), com aplicação sobre as membranas de substâncias esclerosantes, visando a formação de película protetora e retração da membrana que recobria as alças intestinais, resultando na epiteliação progressiva do defeito. A mortalidade, porém, persistiu elevada com esta técnica (MOLIK *et al.*, 2001; MAKSOUD, 2004).

Williams² (1930), citado por Schuster (1967), introduziu o reparo estadiado para grandes defeitos da parede abdominal, porém, a mortalidade permanecia elevada em decorrência dos processos infecciosos (SEGEL *et al.*, 2001).

Gross (1948), idealizador de uma das primeiras tentativas de utilização de enxertos na correção em um e dois tempos nos defeitos da parede abdominal, utilizou enxerto de pele no reparo de onfaloceles e gastrosquises. Contudo, o resultado foi pobre ocorrendo grandes hérnias ventrais (SUITA *et al.*, 2000).

Schuster e Izant (1967), Brown e Rothmann (1966) descreveram a confecção de silo de politetrafluoroetileno (Teflon®) para acomodação do conteúdo abdominal e posterior fechamento estadiado da aponeurose. Apresentaram bons resultados, porém, maior morbimortalidade ao ser comparado com os pacientes submetidos ao fechamento primário. Segundo Blakelock, Harding e Kolbe (1997) isto ocorreu devido a maior necessidade de antibióticos, nutrição parenteral e tempo de intubação.

Desde que tal procedimento foi descrito, uma gama de tecidos sintéticos e biológicos tem sido empregada na confecção destes silos (KIDD *et al.*, 2003).

Allen e Wrenn (1969) substituíram o politetrafluoroetileno (Teflon®), que estava relacionado com maiores taxas de proliferação bacteriana, por material derivado de elastômeros de silicone (Silastic®), reduzindo as infecções.

Seguindo esta linha, Miranda *et al.* (1999) descreveram no Brasil a utilização de material de baixo custo, a bolsa plástica de hemoderivados. Seus resultados foram semelhantes aos materiais usados rotineiramente como os elastômeros de silicone (Silastic®) ou o politetrafluoroetileno (Teflon®) (SYDORAK *et al.*, 2002; SCHLATTER *et al.*, 2003).

¹ AHLFELD, F. Alkohol bei der behandlung inoperabler bauchbrüche mschr. **Geburtsch. Gynak**, Berlin, v.10, p.124, 1899.

² WILLIAMS, C. Congenital defects of the anterior abdominal wall. **Surgical, Clinical of North America**, Philadelphia, v.10, p.805, 1930.

Lee, Jung e Kim (1997) introduziram a utilização de silo pré-fabricado com produto auto-adesivo (Steridrape®), não havendo necessidade de sutura.

Bianchi e Dickson (1998) descreveram a técnica minimamente invasiva, na qual realizaram redução do conteúdo abdominal exposto e sutura da parede abdominal na Unidade de Terapia Intensiva (UTI), sem anestesia ou sedação.

Minkes *et al.* (2000) trataram consecutivamente 43 neonatos com gastrosquise. Em 30 pacientes realizaram síntese primária do defeito e nos outros 13 correção da parede abdominal após inserção do silo de elastômeros de silicone (Silastic®). Neste último grupo ocorreu menor incidência de aumento na pressão das vias aéreas, extubação precoce, menor índice de complicações e menor tempo de internação. O procedimento cirúrgico pode ser realizado na UTI neonatal. Contudo, ressaltaram a necessidade da analgesia e sedação reduzindo o estresse neonatal.

Dolgin, Midulla e Shlasko (2000) propuseram intervenção mínima para quatro pacientes com gastrosquise. O defeito era primeiramente envolvido em bolsa plástica e uma sonda orogástrica era usada para descompressão abdominal, após cinco horas, o intestino era colocado gradualmente na cavidade abdominal e sutura simples promovia o fechamento do defeito. Apenas o primeiro paciente não apresentou complicações e concluíram que critérios de seleção são necessários antes do método ser recomendado.

Bianchi, Dickson e Alizai (2002) trouxeram novas contribuições para o procedimento minimamente invasivo, confirmando a necessidade da analgesia e anestesia local. Fator confirmado no estudo de Salomon *et al.* (2002).

Schlatter *et al.* (2003), correlacionaram as técnicas na correção de gastrosquise. Um grupo, de 39 pacientes, foi tratado com reparo primário e 26 pacientes foram submetidos à implantação de silo seguido de reparo tardio. Observaram que o índice de complicações, tempo de ventilação mecânica, tempo de internação, incidência de falha cirúrgica e demora do retorno da função vesical foram menores no segundo grupo.

Kidd *et al.* (2003), analisaram, retrospectivamente, 124 pacientes com gastrosquise, seis foram excluídos por outras anomalias letais associadas. Os pacientes foram acompanhados por período de dez anos. Concluíram que com a

introdução do uso de silo, a partir de 1997, os resultados cirúrgicos foram melhores quando comparados com o fechamento primário realizado previamente.

Sandler *et al.* (2004) desenvolveram variação da técnica de Bianchi. Os autores preconizaram a redução do conteúdo abdominal exposto e utilização do coto umbilical para o fechamento da parede abdominal, realizada sem sutura, somente com curativo plástico adesivo transparente (Tegaderm®), após anestesia geral e intubação na UTI neonatal.

Kyser, Sirota e Chaimoff (2004) analisaram retrospectivamente 12 recém-nascidos com gastrosquise e hérnia diafragmática congênita, submetidos ao procedimento com tela de elastômeros de silicone (Silastic®) na parede abdominal para fechamento da parede abdominal sem tensão. Concluíram que o uso desta técnica deve ser estimulado, pois previne seqüelas, reduz o período de ventilação mecânica e melhora a sobrevida ao evitar a síndrome compartimental abdominal.

Na tese de doutorado de Otto (2003) o autor relata um histórico dos materiais utilizados para correção das herniações abdominais. Iniciando com Witzel e Goepel, em 1889, que descreveram a utilização de telas de prata no fechamento de grandes hérnias da parede abdominal. Continuando com o uso de materiais metálicos, Babcock, em 1939, empregou telas de aço e, em 1940, Burke utilizou telas de tântalo na correção dos defeitos abdominais. Baerg *et al.* (2003) referem que a partir de 1950 tornou-se comum o uso das próteses sintéticas não absorvíveis como nylon (API *et al.*, 2001; ARNAUD *et al.*, 1977), politetrafluoroetileno (Teflon®) (VILJANTO; RAEKALLIO, 1976; YASTER *et al.*, 1989), silicone (WALKER; HENDERSON; CONDON, 1993), politetrafluoretileno expandido (e-PTFE), lâmina de politetrafluoretileno (Gore-Tex®) (BELLÓN *et al.*, 2002; SMITH *et al.*, 1989), poliéster (Dacron®), poliéster multifilamentar (Mersilene®) e elastômeros de silicone (Silastic®), polipropileno monofilamentar (Marlex®) com ou sem cobertura de gelatina (Marlex com Gelfim®) (JENKINS *et al.*, 1983), polipropileno bifilamentar (Prolene®) (RIET *et al.*, 2004), polipropileno multifilamentar (Surgipro®) (WALKER; HENDERSON; CONDON, 1993; RIET *et al.*, 2004), material composto de poliuretano-polipropileno (TMS-1) (ALIABADI-WAHLE *et al.*, 1996), esponja de polivinil (Ivalon®), polímeros de silicone, fibras de carbono (MORRIS *et al.*, 1990), celulose regenerada industrializada (Fortisan®) (BADYLAK *et al.*, 2002; VAVRÍK *et al.*, 2000). Estes produtos apresentaram boa adaptação à parede abdominal,

contudo, foram mais sujeitos às infecções, induziram maior número de aderências e formaram fístulas enterais com maior frequência (GRECA *et al.*, 2004). As próteses sintéticas absorvíveis, por sua vez, apresentaram menores índices de infecção, aderência e fístulas, porém, não conferiam adequada resistência à parede abdominal. Dentre tais materiais podem-se citar: poliglactina 910 (Vicryl®) (KLINGE *et al.*, 1999; KLINGE; SCHUMPELICK; KLOSTERHALFEN, 2001), ácido poliglicólico (Dexon®) (RATH *et al.*, 1996; KYZER; SIROTA; CHAIMOFF, 2004). Nesta constante busca pelo material ideal houve a introdução dos enxertos biológicos como o pericárdio bovino (Perigard®) (JAMES *et al.*, 2001), a dura máter humana (SMITH *et al.*, 1989; WILLIAMS *et al.*, 1998; BELLÓN *et al.*, 1999), xenoenxertos de colágeno como: colágeno de derme suína – (Zenoderm®), membranas de colágeno tipo um bovina (MEDDINGS *et al.*, 1995); submucosa de intestino delgado (SIS) (CLARKE *et al.*, 1996; SANTIS *et al.*, 2000; GRECA *et al.*, 2004), matriz acelular (ACM) (GAMBA *et al.*, 2002), matriz da cápsula renal (RCM) e submucosa da bexiga (UBS) (SOIDERER *et al.*, 2004). Todavia, nenhum dos materiais citados preencheu todos os critérios de manter a força tênsil e resistência tecidual, ser incorporado totalmente pelos tecidos adjacentes e não formar aderências.

Clarke *et al.* (1996), criaram modelo experimental em cães, nos quais duas incisões foram realizadas na parede abdominal. Enquanto um dos lados foi corrigido com submucosa de intestino delgado, o outro foi tratado com malha de polipropileno. Utilizando análise histopatológica e imunohistoquímica no primeiro, segundo e quarto meses pós-operatórios e inspeção diária quanto a complicações, os autores concluíram que a submucosa de intestino delgado pode ser usada como enxerto em defeitos da parede abdominal.

Klinge *et al.* (1999) estudaram 225 ratos *Wistar*, nos quais foi testada uma nova tela (tela A) adaptada à fisiologia da parede abdominal através da diminuição da quantidade de polipropileno comumente usada. Partindo do pressuposto que o aumento consecutivo do tamanho dos poros da tela, bem como, o uso de substância multifilamentar causa pronunciado aumento da flexibilidade dos poros, a amostra foi dividida em cinco grupos. O grupo controle foi submetido à laparotomia e síntese primária. Os demais grupos foram utilizados tela de polipropileno (tela A), tela de polipropileno coberta por poliglactina absorvível (tela B), tela de polipropileno associada a filamentos de poliglactina (tela C) e tela de polipropileno coberta por

poliglactina e associada a filamentos de poliglactina (tela D). Estes pesquisadores observaram que a cobertura do polipropileno por poliglactina associou-se com melhores resultados na tensitometria e melhor cicatrização, analisada histopatologicamente.

Kuhn *et al.* (2001), partindo da afirmação de que o período de regeneração hepática retarda os reparos da parede abdominal, estudaram 48 ratos, divididos em grupo controle, grupo que sofreu celiotomia, grupo que sofreu hepatectomia e grupo que sofreu enterectomia com anastomose. Fazendo-se a análise tensiométrica e a dosagem sérica do fator de necrose tumoral, os autores observaram que a cicatrização da parede abdominal mostrou-se retardada nos ratos que sofreram hepatectomia de maneira estatisticamente significativa quando comparada aos outros grupos, sugerindo que a regeneração do parênquima hepático é priorizada em relação à migração de fibroblastos envolvidos na cicatrização da parede abdominal.

Badylak *et al.* (2002), observando e analisando o uso da matriz extracelular derivada da submucosa do intestino delgado (SIS) no reparo de defeitos da parede abdominal de cães e ratos e aferindo os resultados mediante análise histológica com H/E e tricrômico de Gomori, verificaram que este material é tão efetivo a longo prazo quanto outros tecidos sintéticos usados comumente.

Gamba *et al.* (2002), alicerçados na observação de casos clínicos nos quais a matriz acelular pode estimular a regeneração de defeitos da parede abdominal, pesquisaram em 18 coelhos o uso deste material em defeitos da parede abdominal e concluíram, mediante análise histopatológica e eletrofisiológica, que este tipo de enxerto sustenta a migração fibroblástica, o depósito de colágeno e a neovascularização.

Vindigni *et al.* (2004), utilizando retalhos de músculo reto abdominal para preparar retalhos de matriz extracelular, dividiram 15 ratos com defeitos na parede abdominal em três grupos igualmente distribuídos, sendo o primeiro composto por defeitos que tiveram seu reparo realizado com matriz extracelular associada com mioblastos autólogos. No segundo grupo o reparo foi feito com enxerto autólogo e o terceiro grupo teve seu reparo realizado com enxerto autólogo com infiltração de cloridrato de bupivacaína (Marcaína®). A análise histopatológica evidenciou maior proliferação celular no primeiro grupo de animais em relação aos outros, sendo esta, estatisticamente significativa.

Riet *et al.* (2004) estudaram 58 ratos com defeitos da parede abdominal corrigidos com tela de polipropileno (grupo 1), e tela de polipropileno revestida de colágeno (grupo 2). Verificaram maiores taxas de infecção nos animais do grupo 2, contudo, estes apresentaram também menor número de aderências.

Soiderer *et al.* (2004) compararam um grupo de 96 ratos às próteses utilizadas nos reparos da parede abdominal constituídas de diferentes materiais: tela de polipropileno, material colágeno derivado de suíno (CBM), submucosa de intestino delgado (SIS), matriz da cápsula renal (RCM) e submucosa da bexiga urinária (UBS). Os autores concluíram que os grupos estudados, com exceção daquele onde os defeitos da parede abdominal foram tratados com tela de polipropileno, apresentaram resposta inflamatória semelhante, a não ser neste grupo, no qual a proliferação fibroblástica foi mais intensa.

Silva (1971) descreveu a utilização do tecido fibroperitoneal do próprio saco herniário para o tratamento cirúrgico das hérnias abdominais em adultos. Pereira *et al.* (2004), na Universidade Federal de Minas Gerais, submeteram a reparo secundário 11 pacientes com onfaloceles gigantes, com a média de idade $2,4 \pm 1,3$ anos e a média de peso $11,8 \pm 3,9$ Kg. Utilizaram técnica na qual a síntese foi realizada em três camadas mediante transposição de aponeurose fibroperitoneal longitudinal bilateral (Técnica de Lázaro da Silva), observando que este procedimento é seguro e eficaz na correção eletiva de onfaloceles gigantes.

Haddad (1968) descreveu a utilização de retalho bipediculado de pele nos defeitos de parede abdominal com mais de seis centímetros de extensão. Posteriormente, Zaccara *et al.* (2003) utilizaram próteses de Gore-Tex® para fechar o defeito da aponeurose e cobriram com o retalho cutâneo bipediculado. Os resultados continuaram regulares, a necessidade de substituição da prótese sintética com o crescimento da criança fazia-se necessária.

Bawasir, Wong e Sigalet (2003) trataram quatro pacientes com onfaloceles gigantes com tela absorvível e subsequente retalho de pele minimizando as complicações pulmonares resultantes da ráfia primária, obtendo, bons resultados.

Argenta, Marks e Pasyk (1985) introduziram os expansores de pele em três pacientes com onfaloceles. Os resultados foram frustrantes, devido a formação de grandes hérnias ventrais (BAWAZIR; WONG; SIGALET, 2003). Entretanto, Ugarte *et al.* (2004) associando expansores de pele ao tratamento estadiado obtiveram resultados animadores.

Howdieshell *et al.* (2003) criaram defeitos na parede abdominal de 12 porcos que foram reparados com enxerto de silicone e fechamento da pele, sendo após injetado solução salina no tecido celular subcutâneo em metade destes animais (controle) e um inibidor da enzima óxido nítrico sintetase. Foram analisados, nos dias pós operatórios dois, quatro, sete, nove, 11 e 14, com ultrassonografia, para mensurar a espessura do tecido de granulação, e dopplerfluxometria, para analisar a perfusão arterial do defeito da parede abdominal corrigido. Partindo do fato de que o óxido nítrico promove a formação do fator de crescimento do endotélio vascular e, por extensão, formação de tecido de granulação, os autores observaram que o óxido nítrico e fator de crescimento do endotélio vascular são importantes na formação de tecido e granulação.

O uso de enxertos livres faciais autógenos teve início com os estudos de Hamilton (1968). Mesmo demonstrando que tais enxertos faciais livres não vascularizados mantêm sua estrutura, apresentaram taxa de recorrência de 6,4% no tratamento de 47 pacientes com hérnia ventral.

Ger e Dubois (1983) descreveram a utilização de retalhos musculares de avanço na correção de onfaloceles gigantes com bons resultados. Silvermann *et al.* (2004) empregaram em um caso de onfalocele gigante, retalho miofascial com ótimo resultado quanto a não formação de hérnia ventral. Porém, o resultado estético foi ruim, pois o local doador foi extenso e permaneceu com área cruenta por longo período.

Williams *et al.* (1998) analisaram, retrospectivamente, 27 pacientes que foram submetidos à reconstrução da parede abdominal com músculo tensor de fáscia lata, sendo 12 com enxerto livre, nove com retalho pediculado e seis com retalho livre. Os autores observaram que enxertos livres de músculo tensor da fáscia lata mostraram ser uma opção no reparo de herniações abdominais nos casos em que o tecido foi adequado, ou seja, sem infecção. Retalhos pediculados puderam ser usados quando existiram defeitos no tecido, porém, tiveram seu uso limitado pelo grau de rotação e tamanho do defeito. Finalmente, os retalhos livres puderam ter seu uso nos defeitos supra-umbilicais.

2.3 ENXERTOS HOMÓLOGOS

Enxertos homólogos ou aloenxertos são enxertos de tecido ou transplante de órgão colhidos de um doador geneticamente não idêntico, da mesma espécie do receptor. Há basicamente, dois tipos de doadores de tecidos homólogos, os doadores vivos e os cadavéricos. Rigorosos critérios de exclusão são empregados para a seleção dos doadores baseados na história clínica pregressa, exame físico, diagnóstico clínico do doador. Sorologia completa é realizada no momento da doação e, posteriormente, após período de quarentena por seis meses. Realizam-se culturas para germes aeróbios, anaeróbios e fungos (PARDINI; ALENCAR, 2001).

A seleção dos potenciais doadores é baseada nos critérios como idade, história clínica com ênfase em doenças infecto-contagiosas, câncer, doenças do colágeno, diabetes tipo I e II, uso de drogas ilícitas, esclerose múltipla, distrofia muscular, linfadenopatia, corticoterapia sistêmica prolongada, traqueostomia, feridas cutâneas múltiplas, febre de origem desconhecida e morte de causa ignorada (JOHNSON, 2004).

Todos os doadores são submetidos à longa bateria de testes contendo anti-HIV 1 e 2 (ELISA e antígeno p24), anti-HTLV I e II, Hepatites B e C (HbsAg, anti-HBc, anti-HCV), Sífilis (VDRL), Chagas (IE e HAI). Nos doadores cadáveres, para reduzir os riscos da janela imunológica, realizam-se exames imunogenéticos tipo PCR, que detectam o RNA ou DNA do vírus infectante, portanto, sua positividade é mais precoce. Nos doadores vivos, os testes são repetidos seis meses após a coleta do material (PARDINI; ALENCAR, 2001).

Conforme a conservação do enxerto este pode ser classificado como fresco, congelado a seco e congelado (JOHNSON, 2004).

2.3.1 Enxertos frescos

Tecido musculoesquelético mantido em temperatura de geladeira (4–7° C). O procedimento cirúrgico deve ser realizado até sete dias após a coleta do tecido (DISA; KLEIN; GOLDBERG, 1996 e 1998).

2.3.2 Enxertos congelados a seco

Também chamado de liofilizado, os materiais são desidratados e submetidos a congelamento rápido, ou conservados em substâncias de manutenção e mantidos a vácuo até sua utilização (CAMERON *et al.*, 1971, WEBSTER; WERNER, 1983). Podem ser ainda esterilizados com radiação gama ou com óxido de etileno (TORITSUKA *et al.*, 1997).

2.3.3 Enxertos congelados

Os tecidos musculoesqueléticos são estocados e congelados em temperatura de 85° C negativos por período de seis meses. Após o período de quarentena (seis meses), os tecidos coletados em que os resultados dos exames imunogenéticos e culturas de bactérias e fungos foram negativos, são retirados do congelador. São realizadas novas coletas para cultura, e os tecidos são separados e armazenados para a utilização posterior em procedimentos cirúrgicos específicos (PARDINI; ALENCAR, 2001).

Os tecidos que apresentaram resultados negativos para as culturas, no início e no final do processamento são mantidos no *freezer* à temperatura de 80° C negativos. Nestas condições ideais, os tecidos podem ficar estocados por período de cinco anos de acordo com a AATB (*American Association of Tissue Banks*) (WOMACK; GRAY, 2000). Estes materiais ainda podem ser submetidos à esterilização por radiação gama ou por óxido de etileno (SMITH; YOUNG; KEARNEY, 1996).

2.4 CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS DOS ENXERTOS HOMÓLOGOS CONGELADOS

Os enxertos homólogos após sofrerem o processo de congelamento apresentam alterações histológicas como morte celular, ausência de núcleo, redução ou destruição dos antígenos de histocompatibilidade de superfície celular que conferem baixa ou nula imunogenicidade (DREZ *et al.*, 1991; FLAHIFF, 1995). As fibras colágenas apresentam-se mais afastadas devido à cristalização da água da

matriz extracelular, sem alteração em sua estrutura (STRICKLAND; MACGILLIVRAY; WARREN, 2003).

Os tecidos musculoesqueléticos congelados após implantação sofrem processo de incorporação. Este consiste de uma seqüência de fenômenos biológicos, primeiramente, necrose do enxerto, repopulação celular, revascularização e remodelamento do colágeno (JACKSON; CORSETTI; SIMON, 1996). O enxerto atua como uma ponte para a migração de células do hospedeiro para o tecido transplantado (CAMERON *et al.*, 1971; BETTIN, 2003).

2.5 UTILIZAÇÃO DE ENXERTOS HOMÓLOGOS

Valenti *et al.* (1971) descreveram pela primeira vez a instituição de banco de tecidos osteomusculares. Desde então, centenas de artigos vêm sendo apresentados na literatura trazendo alguma colaboração para a utilização dos enxertos estocados.

O emprego desta técnica em ortopedia é bem conhecido e amplamente utilizado. Desde 1990, Tomford *et al.* (1990) utilizaram tendões congelados na reconstituição de ligamentos do joelho.

Contudo, foi somente na década de 80 que Oklund *et al.* (1986) utilizaram tecido osteomuscular congelado para correção de defeitos de crânio em neurocirurgia.

Canty *et al.* (1998) utilizaram válvulas cardíacas congeladas na correção de defeito cardíaco grave em gêmeos onfalópagos, com ótimo resultado.

Tojo *et al.* (1998) realizaram estudos experimentais em cães utilizando enxertos traqueais criopreservados. O enxerto demonstrou ser ótima opção na substituição de defeitos ou alterações traqueais, pois conservou as estruturas íntegras na manutenção da ventilação.

Amundsen *et al.* (2000) implantaram enxertos de fáschia lata no tratamento da incontinência urinária de *stress*. Realizaram em 104 pacientes o anel pubovaginal com enxerto de fáschia lata congelada com sucesso de 47% na correção da incontinência. Resultados semelhantes aos procedimentos freqüentemente utilizados para incontinência urinária.

Levi *et al.* (2003) empregaram pela primeira vez o enxerto composto homólogo fresco de parede abdominal em seis pacientes submetidos a transplante

de intestino. Descreveram 86% de viabilidade do enxerto, sem reação enxerto-hospedeiro aparente.

Levine e Saltzman (1995) introduziram enxertos homólogos frescos de diafragma na bolsa omental de 30 ratos e analisaram sua cicatrização. Verificaram 13,4% de necrose do enxerto, provavelmente, devido à reação enxerto-hospedeiro (MAEDA *et al.*, 1997; BETTIN *et al.*, 2003).

A necessidade de conservação dos enxertos sempre foi uma necessidade e Mazzanti *et al.* (2001) descreveram a conservação do enxerto homólogo de diafragma conservado em solução supersatura de açúcar para correção de grandes defeitos diafragmáticos em cães. Os resultados foram animadores, com substituição completa após 75° de PO do enxerto por tecido de cicatrização com boa tensão e resistência tensil. Porém, o meio de conservação só mantinha o enxerto viável por período máximo de 30 dias.

Pelaez Mata *et al.* (2001) publicaram um caso de utilização com sucesso de enxerto de fâscia lata homólogo congelado para reconstrução de parede abdominal em recém nato portador de hérnia diafragmática.

Pode-se verificar, através da literatura, que a utilização dos bancos de tecidos é ainda muito reduzida. O emprego do enxerto homólogo congelado de diafragma na reconstrução de parede abdominal não foi ainda descritos na literatura, gerando, portanto, a necessidade da investigação, sendo um dos fatores de incentivo ao presente estudo.

2.6 CICATRIZAÇÃO

O estudo da cicatrização na parede abdominal tem acompanhado a história da cirurgia (DONOFF; GRILLO, 1975; FORREST, 1983; CAMPOS *et al.*, 1996; CARLSON, 1997). Seus fundamentos são essenciais para o pesquisador no que tange o entendimento dos fenômenos que serão observados, avaliados e interpretados no seguimento do trabalho realizado.

A cicatrização foi dividida, academicamente, desde os trabalhos de Carrel^{11,17} (1902; 1912) citado por Comroe (1998), em três fases, inflamatória, de fibroplastia e

11. CARREL, A. La technique opératoire des anastomoses vasculaires et la transplantation des viscères. **Lyon Médecine**, v.98, p.859-864, 1902.

17. CARREL, A. The preservation of tissues and its applications in surgery. **JAMA**, v.59, p.523-527, 1912.

de maturação ou em cinco períodos, inflamatório, de proliferação celular, de formação de tecido conjuntivo, de contração da ferida e de remodelação (STEED, 2003).

A observação clínica e microscópica do processo de cicatrização tem levado os pesquisadores a aumentar as investigações em relação à biologia molecular deste processo, muitas vezes abandonando antigos conceitos que se baseavam em hipóteses biológicas (HEGGERS, 2003; DUBAY; FRANZ, 2003; MONACO; LAWRENCE, 2003).

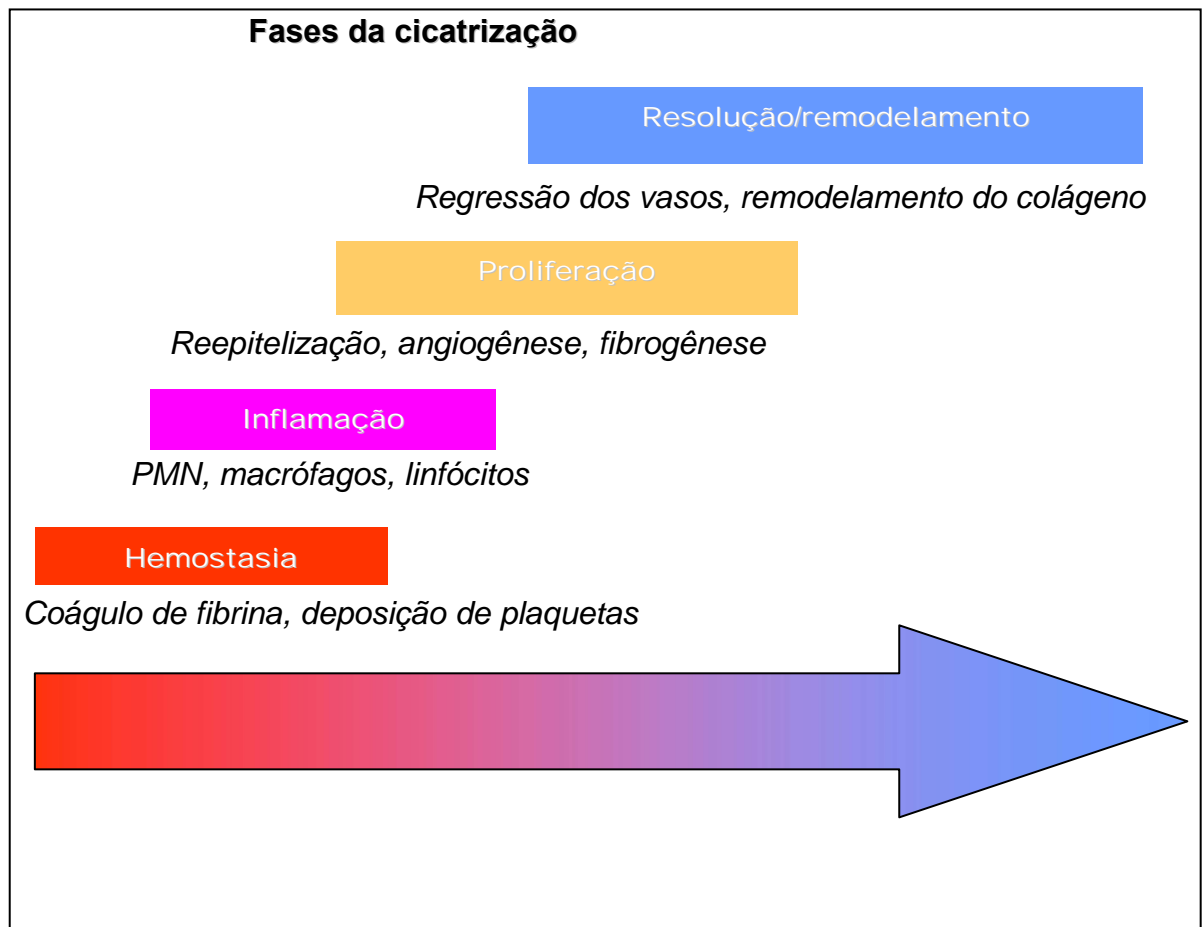
Uma ferida cirúrgica desorganiza a arquitetura do tecido e causa hemorragia, o que expõe o sangue ao colágeno, resultando em amplificação de grandes sistemas bioquímicos (cascata do complemento, mecanismo de coagulação, cascata de cininas e geração de plasmina). Dentro de algumas horas, o local de reparo se encontra altamente preenchido por neutrófilos, polimorfonucleares, linfócitos e monócitos, tendo sua maior concentração por volta do terceiro ao quarto dia (HENRY; GARNER, 2003).

A fase de maturação é caracterizada pela deposição de colágeno na lesão, que tem seu pico entre o quinto e sétimo dia. A velocidade, quantidade e qualidade desta deposição determinam a resistência da cicatriz (BIRK; MAYNE, 1997; FORREST, 1983; KER, 1999).

As alterações da composição da matriz de restituição da ferida são decorrentes do tempo. Inicialmente, no período hemostático e inflamatório, são formadas, principalmente, por fibrina e fibronectina (JORGENSEN, 2003). Subseqüentemente, o colágeno torna-se a proteína predominante da cicatriz, sendo o componente principal da matriz extracelular de quase todos os tecidos. Na sua produção ocorre a hidroxilação dos aminoácidos prolina ou lisina, que conferem estabilidade à molécula do colágeno.

As fases da cicatrização estão representadas esquematicamente na figura 1.

FIGURA 1 – FASES DA CICATRIZAÇÃO



Interrupções ou interferências em qualquer ponto desta cascata podem levar a falha parcial ou completa no processo da cicatrização como observado no quadro 1 (OLIVEIRA *et al.*, 2000).

QUADRO 1 – FATORES QUE INTERFEREM NA CICATRIZAÇÃO

Fatores Locais	<p>Infecção</p> <p>Corpos estranhos</p> <p>Isquemia</p> <p>Tabagismo</p> <p>Radiação</p> <p>Trauma</p> <p>Câncer</p> <p>Toxinas locais</p> <p>Insuficiência arterial</p> <p>Hipertermia</p>
Fatores Sistêmicos	<p>Desordens congênitas da formação do colágeno</p> <p>Deficiências nutricionais</p> <p>Idade</p> <p>Diabetes</p> <p>Doenças hepáticas</p> <p>Alcoolismo</p> <p>Uremia</p> <p>Medicações</p> <p>Transfusões sangüíneas</p> <p>Icterícia</p>

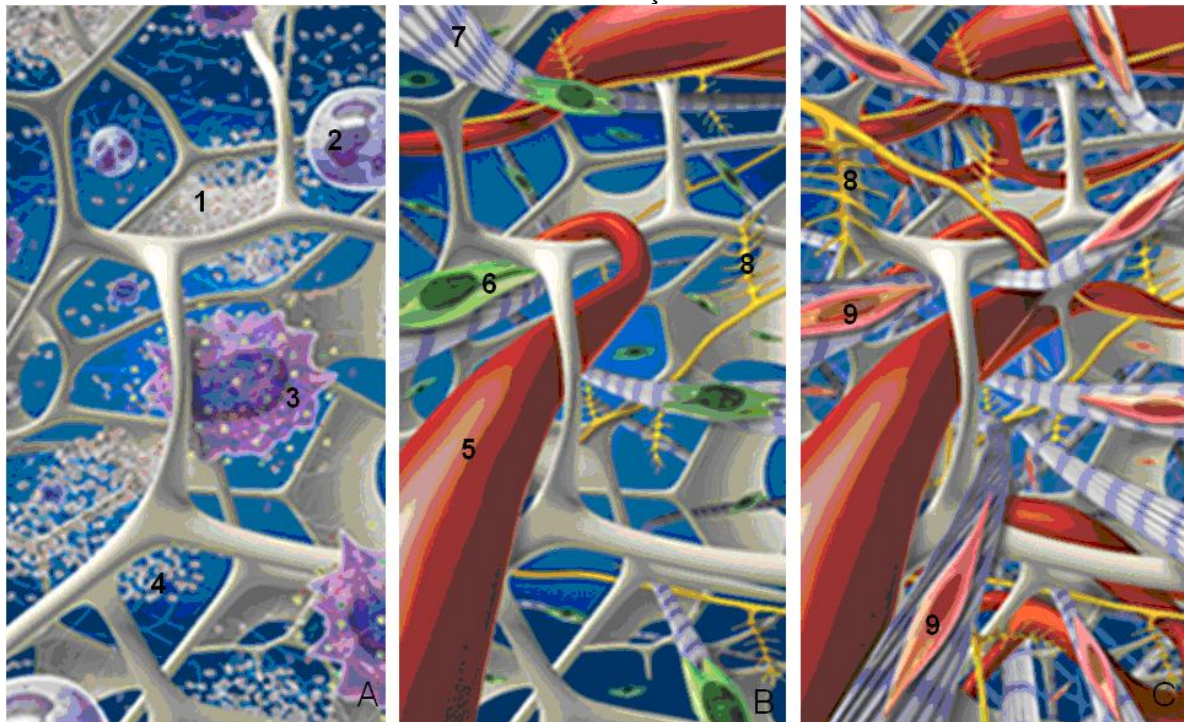
FONTE: BURNS, J. L.; MANCOLL, J. S.; PHILLIPS, L. G. Impairments to wound healing. **Clinics in Plastic Surgery**, Philadelphia, v.30, n.1, p.47-56, Jan. 2003.

2.6.1 A cicatrização no tecido muscular

Há três fases no processo de cicatrização dos tecidos musculares (KALIMO *et al.*, 1997):

1. Fase de destruição: caracterizada pela formação de hematoma, necrose do tecido muscular, degeneração e resposta celular inflamatória.
2. Fase de reparo: caracterizada pela fagocitose do tecido lesado, regeneração do músculo estriado, produção de cicatriz de tecido conjuntivo e aumento da vascularização (neovascularização).
3. Fase de remodelamento: definida pela regeneração do tecido muscular maduro, contração e remodelamento do tecido cicatricial.

FIGURA 2 - FASES DO PROCESSO DE CICATRIZAÇÃO MUSCULAR

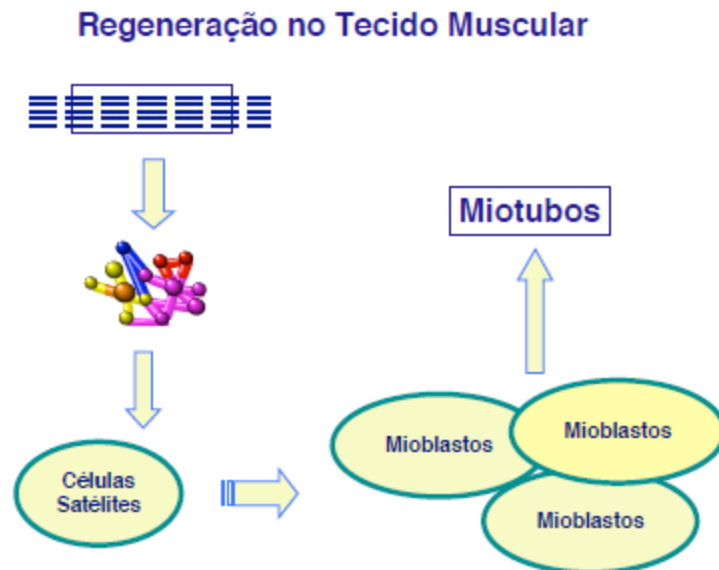


NOTA: Desenho esquemático das fases Destruição (A), Reparo (B) e de Remodelamento (C) da cascata da cicatrização. 1. Plaquetas, 2. Neutrófilos, 3. Macrófagos, 4. Fatores de crescimento, 5. Vasos sanguíneos, 6. Fibroblastos, 7. Colágeno, 8. Proteinoglicanos, 9. Fibroblasto maduro.

FONTE: modificado de www.biomerix.com/technology/benefits.php

A regeneração das miofibrilas começa com a ativação das células precursoras da miogênese, ou células satélites, localizadas entre a lâmina basal e membrana plasmática de cada miofibrila individual. Elas proliferam e diferenciam-se em miotúbulos multinucleados. Muitos destes mioblastos são capazes de se unir com as miofibrilas necrosadas existentes e podem, assim, prevenir a degeneração completa da fibra muscular (HUARD *et al.*, 1994) (FIGURA 3).

FIGURA 3 - FASE DE REPARO DO PROCESSO DE CICATRIZAÇÃO MUSCULAR.



FONTE: modificado de www.biomerix.com/technology/benefits.php

Nesse mesmo momento, fibroblastos invadem o local e começam a produção de matriz extracelular para restaurar a arquitetura do tecido conjuntivo (HURME *et al.*, 1991). HINZ *et al.* (2001) descreveram que os miofibroblastos são interconectados entre si por junções especiais e com a matriz extracelular pelo chamado fibronexus, uma complexa membrana que envolve microfilamentos intracelulares em continuidade com fibronectina extracelular. Observaram também, que estas células são importantes produtoras de colágeno dos tipos I e III, e a existência de direta correlação entre o nível de actina 1-SM e o grau de contração dos miofibroblastos.

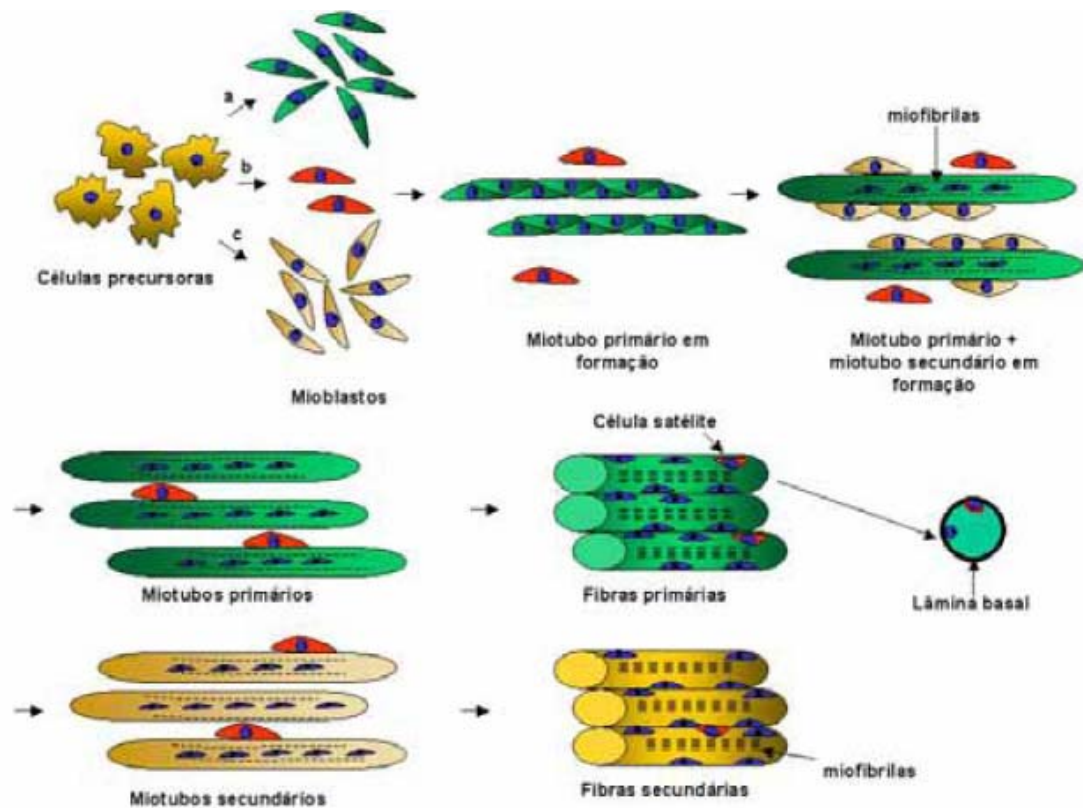
Os fatores de crescimento também estão presentes e são capazes de estimular o crescimento e a secreção de proteínas das células musculoesqueléticas (TRIPPEL *et al.*, 1996). Durante a regeneração muscular substâncias trópicas são liberadas pela lesão muscular após ativação das células satélites, e o crescimento e o desenvolvimento de muitos outros fatores de crescimento estimulam variadas respostas do músculo esquelético. Menetrey *et al.* observaram que o fator de crescimento de fibroblasto beta (b-FGF), o fator de crescimento da insulina tipo 1 (IGF-1) melhoram significativamente a cicatrização muscular. E estes fatores, bem

como o fator de crescimento neural (NGF) são potentes estimuladores da proliferação e da fusão dos mioblastos.

A restauração da continuidade tecidual após lesão e a resistência do reparo tissular dependem primariamente da função do fibroblasto. Os fibroblastos, durante o processo de reparo tecidual, adquirem características de tecido muscular liso e diferenciam-se em miofibroblastos contráteis. O primeiro fenótipo de transição foi chamado de protomiofibroblasto e foi caracterizado pela neoformação de fibras de actina β -citoplasmáticas e por ter capacidade de alterar a matrix extracelular (FOLLONIER et al., 2008). Hinz et al. (2001) verificaram que na presença de TGF β 1, estas células expressavam actina anti músculo liso α (α -SMA), que significava aumento da capacidade contrátil e o marco na diferenciação para miofibroblastos. Nos trabalhos experimentais de Leask et al. (2008) e Hinz et al. (2001) constataram-se que os protomiofibroblastos dominavam as fases precoces da formação do tecido de granulação, enquanto que os miofibroblastos diferenciados predominam nas fases tardias da contração das feridas. Segundo Junqueira e Carneiro (2000), os fibroblastos, e sua evolução para miofibroblastos, são as células mais comuns do tecido conjuntivo, os principais produtores de fibras colágenas e material intercelular amorfo, e os responsáveis pela síntese, deposição e remodelação da matriz extracelular.

Durante a cicatrização normal, o tecido de granulação começa a desaparecer quando a reepitelização encontra-se em fase final, ocorrendo então maciça apoptose dos miofibroblastos e componentes vasculares, levando à formação de uma cicatriz pobremente celular (SKINOVSKY, 2005). Ou a mesma proliferação dos fibroblastos pode levar a uma formação excessiva de tecido cicatricial denso, o qual impede a regeneração da musculatura e resulta em uma recuperação incompleta.

FIGURA 4 - FORMAÇÃO DA FIBRA MUSCULAR ESQUELÉTICA.



NOTA: Formação das fibras musculares estriadas. As células precursoras originam diferentes populações de mioblastos (a, b e c). Alguns mioblastos (a) se alinham e fundem-se formando os miotubos primários, que apresentam núcleos na região central e, iniciam a síntese de miofibrilas que ocupam a região periférica no sarcoplasma do miotubo. Os miotubos primários fornecem o suporte para a subsequente formação dos miotubos secundários, a partir de outra população de mioblastos (c). Posteriormente ocorre a separação dos miotubos primários e secundários e a diferenciação em fibras primárias e secundárias. Os núcleos das fibras migram para a região periférica da fibra e as miofibrilas passam a ocupar todo o sarcoplasma. Alguns mioblastos (b), denominados de células satélites, não se fundem e permanecem quiescentes entre a membrana plasmática da fibra e a lâmina basal.

FONTE: DAL PAI-SILVA *et al.*, 2007.

2.6.2 Colágeno

Tanto na fibra muscular, como em qualquer outro tecido que sofreu uma injúria, o colágeno é o componente fundamental da cicatrização (THORNTON; BARBUL, 1997; SAVASSI-ROCHA; LOPES, 1994; GOTTRUP, 1981).

O colágeno é o maior componente estrutural da matriz extracelular e representa aproximadamente 25% da proteína corporal total. As moléculas de colágeno consistem de três cadeias de polipeptídeos idênticas ou similares que

formam uma hélice tripla (glicina, alanina, lisina, prolina, hidroxilisina e hidroxiprolina). A prolilhidroxilase transforma a prolina em hidroxiprolina, que passa a ser um aminoácido exclusivo do colágeno. A hidroxiprolina está presente em concentrações elevadas no colágeno, sendo indispensável para a estabilização da tríplice hélice da proteína. As hélices são secretadas no espaço extracelular como pró-colágeno (KOHYAMA *et al.*, 2002; KEIRA *et al.*, 2004; CAVAZANA *et al.*, 2009).

O colágeno pode ser classificado de acordo com a estrutura da hélice dominante e com o seu tamanho molecular (OKSALA *et al.*, 1995)

- 1: colágeno fibrilar (tipos I, II, III, V e IX),
- 2: colágeno não-fibrilar grande (tipos IV, VI, VII e XII) e
- 3: colágeno de cadeia curta (tipos IX, X e XIII) (BRASKÉN, 1991).

Durante quatro a cinco semanas após a lesão, a síntese geral de colágeno aumenta às custas do maior número de fibroblastos e do acréscimo da produção de cada célula (ADZICK *et al.*, 1985; BIRK; MAYNE, 1997; BERG; ROBSON, 2003). O colágeno derivado do tecido de granulação, inicialmente do tipo III, difere do colágeno do tecido intacto formado, predominantemente, por colágeno do tipo I (80% a 90%) e tipo III (10% a 20%), pela maior hidroxilação e glicosilação, que confere àquele um diâmetro maior (FORREST, 1983). Ainda, a deposição do colágeno do tipo III na ferida inicia-se precocemente, atinge seu pico em torno do terceiro dia e reduz-se progressivamente até o sétimo dia. A presença de colágeno do tipo I aumenta progressivamente após o segundo dia por, pelo menos, quatro a cinco semanas (CROSS; MUSTOE, 2003; DANG *et al.*, 2003). Também a organização paralela ao tecido vizinho das fibras colágenas não corresponde à organização dos tecidos intactos, que demonstram um padrão de “cesto trançado” (KER, 1999).

A força de ruptura da cicatriz nunca é igual à força do tecido intacto. A análise temporal da força de ruptura mostra que, após uma semana, a ferida possui apenas 3%, após três semanas, 20% de sua força final (VAN WINKLE, 1969; HOLM-PEDERSEN; VIIDIK, 1972; TERA; ABERG, 1976; LIONELLI; LAWRENCE, 2003) e após três meses, apresenta 80% da força da parede abdominal, sem acréscimo após este período (NELSON; DENNIS, 1951; NISHIHARA; PRUDDEN, 1958; ROBSON, 2003).

2.6.3 Avaliação da cicatrização

São quatro os métodos mais freqüentemente usados no estudo da cicatrização dos tecidos. Os métodos para determinação das forças para romper a cicatriz, como a tensiometria (NELSON; DENNIS, 1951; ADAMSON; ENQUIST, 1963; TERA; ABERG, 1976), nos tecidos planos, e a manometria (NISHIHARA; PRUDDEN, 1958), nos órgãos tubulares. Métodos que quantificam as células inflamatórias e fibroblastos e aqueles que avaliam os produtos da cicatrização, como o colágeno, a fibronectina, os fatores de crescimento, entre outros (BERG; ROBSON, 2003).

Holm-Pedersen e Viidik (1972) e Lemos (2002) utilizaram avaliação histopatológica na cicatrização de ratos desnutridos submetidos a incisões transversas e longitudinais, com excelente correlação entre as fases da cicatrização e a quantificação do colágeno, como também, com a tensiometria.

Os estudos clássicos sobre cicatrização empregavam a dosagem de hidroxiprolina, um aminoácido existente na molécula do colágeno. Para tal avaliação era necessário um considerável volume de tecido que englobava a cicatriz, mas também tecidos que não participavam da cicatriz a ser estudada. Devido a isto, grande parte da hidroxiprolina não fazia parte da cicatriz, mas dos tecidos adjacentes. Somado a este fato, a hidroxiprolina traduz o valor do colágeno total e não havendo sua separação em grupos (ADZICK *et al.*, 1985).

Junqueira, Bignolas e Brentani (1979) desenvolveram um método de análise da densidade do colágeno pela coloração de picrossírius, podendo, dessa forma comparar a presença ou não de colágeno na cicatriz cirúrgica.

A coloração de *Sirius red* é um método histoquímico. O *Sirius red* é um ânion forte, capaz de reagir e tingir o colágeno, por meio do seu grupamento sulfônico ácido com o grupamento básico presente na molécula do colágeno. Foi divulgado no final da década de 70, porém, somente após o desenvolvimento dos computadores passou a ser empregado. Antes era possível identificar os tipos de colágeno, depois foi possível quantificá-lo (BIRK; MAYNE, 1997). O emprego do *Sirius red* da coloração de picrossírius permite estudar o colágeno sobre a área da cicatriz, medir sua deposição e diferenciar os colágenos tipo I e tipo III sem a contaminação do colágeno das áreas vizinhas (BAYKAL *et al.*, 1997).

2.6.4 Imunohistoquímica

A imunohistoquímica é o conjunto de procedimentos que utiliza anticorpos como reagentes específicos para a detecção de antígenos presentes em células ou tecidos. Os antígenos podem representar constituintes celulares normais ou pertencer a um elemento estranho à célula (WERNER *et al.*, 2005).

A imunohistoquímica é uma técnica essencialmente qualitativa. Embora métodos quantitativos possam ser aplicados em preparações imunohistoquímicas para se determinar o número de elementos presentes ou a intensidade da reação, seu objetivo fundamental é o encontro e localização topográfica de antígenos nos tecidos ou células.

O produto da reação imunohistoquímica deve sempre ser interpretado em conjunto com os achados morfológicos e não simplesmente em termos de reação positiva e negativa.

Os anticorpos empregados podem ser mono ou policlonais. Para seu reconhecimento, os anticorpos devem estar marcados com algum composto que depois possa ser visualizado seletivamente.

Os anticorpos policlonais são produzidos, *in vivo*, por diferentes células e, portanto, são diferentes quanto às propriedades imunoquímicas; reagem com várias moléculas (epítomos) diferentes, presentes no antígeno contra o qual foram produzidos (ALVES; ROMAN, 2005).

Os anticorpos monoclonais são produzidos, *in vitro*, por clones de células plasmáticas imortalizadas. Ao contrário dos policlonais, reagem apenas com uma molécula (epítopo) presente no antígeno. Inúmeras vantagens apoiaram o largo uso de anticorpos monoclonais em imunohistoquímica: são altamente homogêneos, a ausência de reatividade inespecífica e alta reprodutibilidade lote a lote.

2.6.5 Tissue Microarray

O arranjo em matriz de amostras teciduais, ou *tissue microarray* (TMA), é uma técnica descrita em 1998 por Kononen *et al.*, com ampla aceitação pela literatura mundial. Trata-se da construção de um bloco de parafina contendo fragmentos cilíndricos de amostras teciduais ou tumorais obtidos de dezenas ou centenas de

blocos de parafina originais. Os cilindros teciduais ou tumorais são dispostos no bloco receptor seguindo uma ordem predeterminada.

Um bloco de parafina contendo amostra de centenas de tumores de modo ordenado é uma poderosa ferramenta para a patologia investigativa aplicada. Com o uso de métodos especiais, como a imunohistoquímica ou reação de hibridação *in situ* cromogênica (Cish) ou fluorescente (Fish) em uma lâmina obtida do bloco de TMA, é possível conhecer a expressão de um determinado marcador ou uma determinada amplificação ou translocação cromossômica em centenas de amostras ao custo de uma única reação. Desde sua descrição, crescente utilização do método pode ser demonstrada pelo número de artigos publicados a cada ano (KUMAR *et al.*, 2004; SAPINO *et al.*, 2006; ANDRADE *et al.*, 2007).

Entre as várias aplicações do método Andrade *et al.* citam:

- avaliação da sensibilidade e da especificidade dos novos anticorpos de imunohistoquímica ou novas sondas de Fish/Cish desenvolvidos. É possível, ainda, analisar comparativamente diferentes clones de anticorpos, distintos protocolos de reação ou diferentes sistemas de amplificação;
- pesquisa em larga escala de fatores prognósticos ou preditivos das neoplasias;
- uniformização das reações nos grandes estudos retrospectivos de uma instituição ou estudos colaborativos entre instituições;
- validação ao nível protéico da hiperexpressão ou hipoexpressão gênica identificada nos estudos feitos pela análise da quantificação do DNA complementar.

O uso do bloco de TMA apresenta múltiplas vantagens em relação ao corte tradicional, entre elas:

- grande economia de reagentes e de tempo para a realização das reações;
- uniformização das reações e facilidade na interpretação comparativa dos casos de uma pesquisa;
- possibilidade de repetição das reações em múltiplos níveis do bloco;
- simplificação do trabalho das linhas de pesquisa pela utilização do bloco em mais de um projeto.

Devido a todas essas características o TMA foi totalmente introduzido e aceito não só nas pesquisas clínicas, mas na prática médica também.

Como esse equipamento ainda possui um custo alto de aquisição e de manutenção, surgiu no meio científico, a necessidade de realizar o método sem o uso do equipamento, visando o barateamento dos custos. Grande parte da

comunidade científica teve a mesma preocupação, o que resultou na idéia de confeccionar blocos de parafina artesanalmente, contendo diversas amostras de tecido. Nesse contexto, foi levado ao congresso brasileiro de patologia de 2005, um artigo intitulado “Democratizando o Tissue microarray” (PIRES *et al.*, 2005), no qual descreve a confecção de blocos de TMA utilizando agulhas hipodérmicas convencionais adaptadas por uma micro-retífica. Para a identificação dos blocos receptores utiliza-se um mapa que ordena os cilindros correspondentes aos blocos doadores. Estes cilindros são aderidos ao molde histológico por uma fita dupla face, e posteriormente, preenchido com parafina. As perfurações para a retirada das amostras são realizadas com o auxílio de uma máquina de colocação de ilhós. Outras pesquisas foram realizadas utilizando o método do TMA de forma artesanal. Dois artigos (JENSEN, 2001; JENSEN, 2003) publicados nos Estados Unidos, descrevem, como nesta pesquisa, a utilização de pinças do tipo *Punch* para retirada dos cilindros de amostras e sua metodologia também consiste na montagem do bloco receptor com os cilindros, da forma convencional em inclusor de blocos, seguindo um mapa pré-estabelecido contendo as respectivas identificações. Todos com resultados idênticos, porém, muito mais em conta que a técnica original.

2.6.6 Anticorpos monoclonais actínicos

Todas as células eucariontes expressam actina que constitui mais de 50% do total das proteínas celulares. Os filamentos de actina formar estruturas estáveis e são componentes cruciais dos microvilos e do aparato contrátil das células musculares. Enquanto os eucariontes inferiores têm somente um gene para actina, eucariontes superiores têm várias isoformas codificadas por uma família de genes. No mínimo seis tipos de actinas estão presentes nos tecidos dos mamíferos e encontram-se distribuídas em três classes. A expressão da α actina é limitada aos tipos musculares, enquanto que a β actina e a γ actina são os principais componentes dos filamentos nos outros tecidos.

2.6.6.1 HHF-35

A actina muscular específica (HHF-35) é um anticorpo monoclonal de rato, subclasse IgG1, com peso molecular de 43 kDa, que detecta os isômeros alfa e gama específicos de músculo humano.

Foi descrito por Tsukada *et al.* em janeiro 1987, que avaliaram sua imunomarcagem para células musculares esqueléticas, lisas e cardíacas, bem como para perócitos e células mioepiteliais, não sendo reativo para endotélio, epitélio, tecido neural ou tecido conjuntivo.

Posteriormente, Tsukada *et al.* (1987), apresentaram aplicabilidade médica para o marcador, empregando-o no diagnóstico de tumores musculares como leiomiomas, leiomiosarcomas e rhabdomyosarcomas.

Miguel *et al.* (2003) empregaram o HHF-35 para o diagnóstico de fibroma de células gigantes, hiperplasia fibrosa e fibroma de mucosa oral e, em 2007, Cavalcante *et al.*, utilizaram o HHF-35 como marcador para tumor de glândula salivar. O resultado dessa positividade deve-se a presença de miofibroblastos, células que são ávidas pela coloração referida.

Baseadas nessas características, vários pesquisadores começaram a utilizar o HHF-35 no estudo da cicatrização de tecidos, marcando, indiretamente, a proliferação dos miofibroblastos e a neovascularização, devido, por sua vez, ao aumento do tecido muscular liso perivascular (ANDRETTO *et al.*, 2007).

2.6.6.2 Actina sarcomérica

O anticorpo monoclonal de rato Actina Sarcomérica ou Actina Anti-sarcômero (*Anti-Sarcomeric Actin*), isotipo IgM kappa, de 42 kDa, é marcador específico para tecido muscular estriado esquelético e cardíaco.

A utilização clínica da actina sarcomérica é bem variada, por exemplo, como marcador do rhabdomyosarcoma (WANG *et al.*, 2007) ou na avaliação da regeneração ventricular após transplante de cardiomiócitos (NAITO *et al.*, 2004). Seu emprego na avaliação da cicatrização esta sendo, principalmente, na regeneração do tecido muscular e cardíaco (CAMPOS, 2008).

2.6.6.3 Calponina

A Calponina pertence à família das proteínas associadas à actina, com 34 kDa e foi descrita pela primeira vez no tecido muscular liso de galinhas por Takahashi *et al.* (1986). Existem três isoformas de calponina (h1, h2 e acídica) produtos de três diferentes genes. A calponina h1 (α ou básica) expressa no músculo liso, a acídica no tecido nervoso e a h2 (neutra) no músculo liso, queratinócitos (TAKAHASHI *et al.*, 1988), células endoteliais (MABUCHI *et al.*, 1997) e fibroblastos (FUKUI *et al.*, 1997).

A calponina h2 exerce função na formação do citoesqueleto de actina (JE *et al.*, 2001; LEINWEBER *et al.*, 2000), tendo importante função na contração da cicatriz.

Em vertebrados adultos, a expressão da Calponina h1 está restrita às células musculares lisas diferenciadas, e está localizada nos filamentos contráteis e na actina do citoesqueleto. Sua função não é ainda clara, mas a Calponina h1 parece regular as funções contráteis e não contráteis (adesão, migração e proliferação) (TAKAHASHI *et al.*, 1988; JE *et al.*, 2001).

Seu uso vem sendo, atualmente, amplamente empregue no estudo da cicatrização de tecidos como, por exemplo, no trabalho de SKALLI *et al.*, (1989), no qual a calponina mostrou ser a moduladora do mecanismo de contração muscular. Dado confirmado posteriormente no trabalho de MATTHEW *et al.* (2000) que estudou a bexiga de ratos e verificou a regulação da contração muscular através da calponina h1. Fator que incentivou sua utilização nesta tese.

3 MATERIAL E MÉTODO

O estudo foi realizado no Instituto de Pesquisas Médicas (IPEM), pertencente à Pós-graduação em Princípios de Cirurgia da Faculdade Evangélica do Paraná (FEPAR), obedecendo à Lei Federal 6.638 e às normas do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), instituição filiada ao *International Council for Laboratory Animal Science*.

Foram utilizadas as Normas para Apresentação de Documentos Científicos da Universidade Federal do Paraná (2007); aplicadas as Normas para Referências Bibliográficas (NBR6023) e Abreviações de Títulos e Periódicos (NBR6032) da Associação Brasileira de Normas Técnicas – ABNT; Normas para Apresentação Gráfica de Dados e Tabelas, do Instituto paranaense de Desenvolvimento Econômico e Social – IPARDES.

3.1 ANIMAL DE ESTUDO

Foram utilizados 110 ratos, fêmeas (*Rattus norvegicus albinus*, *Rodentia mammalia*), da linhagem *Wistar*, com idade de 20 dias e peso médio de 110 gramas, oriundos do biotério do Instituto de Tecnologia do Paraná (TECPAR) em Curitiba.

Os animais permaneceram no biotério do IPEM alojados em grupos de cinco animais por caixa de polipropileno, com dimensão padronizada de 0,12 m² de área de superfície, sendo tatuadas linhas transversais na cauda de cada rato (I a IV) para identificação. O ciclo claro/escuro e a umidade do ar foram às próprias do ambiente e a temperatura variou entre 20 ± 2° C. As caixas ficaram à mesma distância da fonte de luz. Os animais tiveram livre acesso à ração, padrão comercial, e à água durante todo o experimento.

3.2 DIVISÃO DA AMOSTRA

Os animais foram alocados em dois grupos:

3.2.1 Grupo experimento

Este grupo foi constituído por 60 animais divididos em subgrupos segundo o período de análise da cicatrização.

Subgrupo EA: eutanásia no 7º dia de vida composto por 10 animais.

Subgrupo EB: eutanásia no 14º dia de vida composto por 10 animais.

Subgrupo EC: eutanásia no 21º dia de vida composto por 10 animais.

Subgrupo ED: eutanásia no 90º dia de vida composto por 15 animais.

Subgrupo EE: eutanásia no 180º dia de vida composto por 15 animais.

3.2.2 Grupo controle

Este grupo foi composto por 50 animais divididos em subgrupos segundo o período de análise da cicatrização.

Subgrupo CA: eutanásia no 7º dia de vida composto por 10 animais.

Subgrupo CB: eutanásia no 14º dia de vida composto por 10 animais.

Subgrupo CC: eutanásia no 21º dia de vida composto por 10 animais.

Subgrupo CD: eutanásia no 90º dia de vida composto por 10 animais.

Subgrupo CE: eutanásia no 180º dia de vida composto por 10 animais.

3.3 FONTE DOS ENXERTOS HOMÓLOGOS ALÓGRAFOS OU ALOENXERTOS

Utilizaram-se 50 ratos fêmeas (*Rattus norvegicus albinus*, *Rodentia mammalia*), da linhagem *Wistar*, oriundos do biotério do IPEM, idade média de 12 meses e peso médio de 840 gramas. Os animais foram submetidos à eutanásia com dose letal de éter etílico. Constatada a morte, com o rato fixado à prancheta cirúrgica em decúbito dorsal, realizou-se incisão ogival ampla da pele, tecido celular subcutâneo, aponeurose, musculatura e peritônio. Na cavidade abdominal, afastaram-se as alças intestinais, o estômago e o fígado, possibilitando a

visualização do diafragma, ressecado em toda extensão. Os enxertos diafragmáticos foram mantidos hidratados em recipiente com solução fisiológica 0,9%, à temperatura ambiente, até seu condicionamento em sacos plásticos individualizados e identificados. Estes, por sua vez, foram colocados em recipientes fechados e novamente embalados em saco plástico. Todo procedimento foi realizado obedecendo a normas de assepsia e anti-sepsia para confecção de material estéril.

3.4 PROCESSAMENTO E CONSERVAÇÃO DOS ENXERTOS

Logo após a retirada e condicionamento dos enxertos (FIGURA 5), estes foram transportados, utilizando-se isopor com gelo, até o Banco de Ossos e Tecidos do Hospital de Clínicas (HC) de Curitiba, onde a bióloga do serviço, devidamente paramentada e sob fluxo de ar laminar, realizou nova embalagem do material em condições estéreis. A próxima etapa consistiu no congelamento dos enxertos a temperatura de -85°C negativos em *freezers*, onde permaneceram todos conservados por período de seis meses.

FIGURA 5 - CONFEÇÃO DO ENXERTO ALÓGRAFO HOMÓLOGO DE DIAFRAGMA



NOTA: enxerto de diafragma de rato doador antes de ser submetido ao congelamento.

3.5 ANESTESIA

Utilizou-se para indução anestésica, o éter etílico a 97% (Farmalquímica®, Curitiba, PR) via inalatória em sistema fechado de campânula. Para a manutenção anestésica empregou-se Ketamina 10% (Cristália®, São Paulo, SP) na dose de 50mg/Kg, via intramuscular, associado ao sistema inalatório com éter, mas com sistema aberto. Os critérios anestésicos empregados foram a imobilidade do animal ao manuseio, a perda do reflexo palpebral, mas com frequência e amplitude respiratórias normais.

3.6 PROCEDIMENTO PRÉ-OPERATÓRIO

Cada animal, após a anestesia, foi pesado e identificado por tatuagem na região da cauda com linhas transversais de I a VIII. Realizou-se tricotomia abdominal e, na sequência, posicionou-se o animal na mesa cirúrgica fixando-o em decúbito dorsal com os membros e cauda em extensão. Foi então efetuada a anti-sepsia da região operatória com álcool 70% e colocados os campos esterilizados.

3.7 PROCEDIMENTO CIRÚRGICO

3.7.1 Grupo controle

Os animais do grupo controle foram submetidos à incisão mediana com cinco centímetros de extensão, tendo início dois centímetros abaixo do apêndice xifóide e envolvendo todos os planos da parede anterior do abdômen (FIGURA 6).

FIGURA 6 – DIÉRESE DOS PLANOS DA PAREDE ABDOMINAL EM ANIMAL DO GRUPO CONTROLE



NOTA: animal 4 do grupo controle subgrupo 3 meses de PO após laparotomia mediana.

Procedeu-se à realização de síntese em plano único, com fio de polipropileno 4.0, envolvendo aponeurose e musculatura com pontos simples, separados entre si por 0,5 cm. A pele foi submetida à rafia com fio de poliglicaprone 25 (Monocryl®) 5.0 mediante sutura tipo chuleio simples, sem curativo.

3.7.2 Grupo experimento

No dia do experimento retirou-se do Banco de Ossos e Tecidos do Hospital de Clínicas de Curitiba os materiais congelados, os quais foram transportados em caixas de gelo até a sala cirúrgica experimental do IPEM, local de realização do estudo. Os enxertos alógrafos de diafragma foram degelados em temperatura ambiente e permaneceram em solução fisiológica 0,9% até o momento de sua utilização.

Os animais após anestesia foram dispostos em pranchetas cirúrgicas na posição de decúbito dorsal. Realizou-se tricotomia da região anterior do abdômen e anti-sepsia com álcool 70%. Seguiu-se incisão abdominal mediana de cinco centímetros de extensão, com início a dois centímetros do apêndice xifóide

envolvendo pele e tecido celular subcutâneo. Este, por sua vez, foi descolado do plano músculo-aponeurótico no sentido de expor toda a musculatura anterior do abdômen. Confeccionou-se defeito traumático da parede anterior do abdômen através de ressecção de segmento de cinco centímetros de comprimento por quatro centímetros de largura, mimetizando um grande defeito congênito da parede abdominal (FIGURA 7).

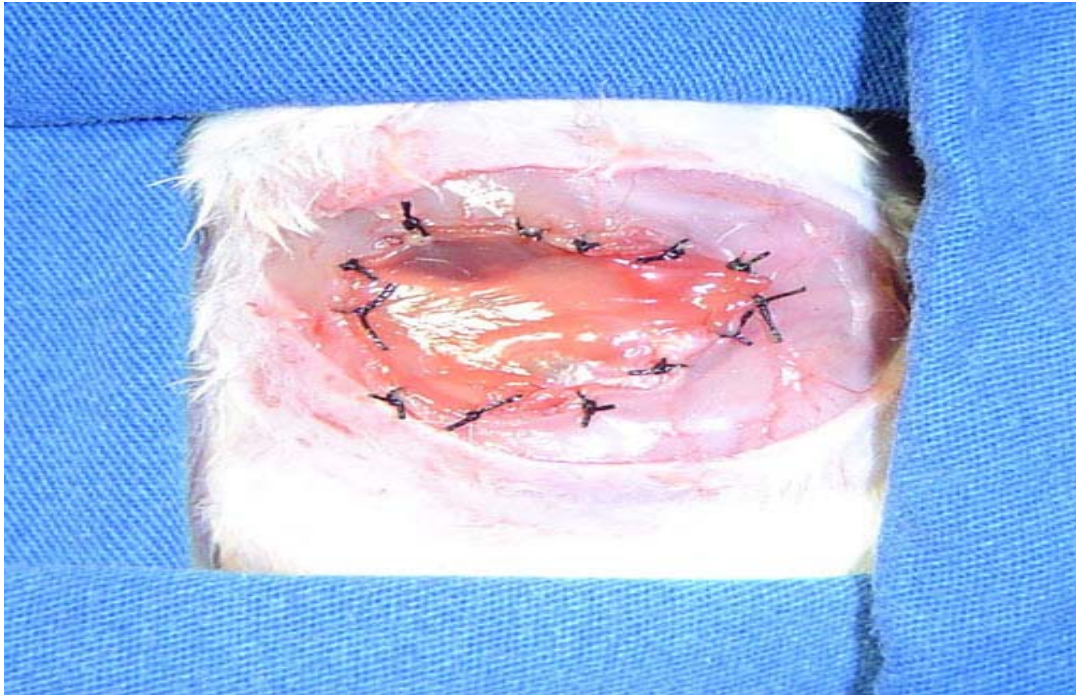
O enxerto alógrafo de diafragma foi então suturado à parede abdominal utilizando pontos simples de fio monofilamentar de polipropileno 4.0, fechando todo defeito abdominal (FIGURA 8). A pele foi submetida à rafia utilizando fio de poliglicaprone 25 (Monocryl®) 5.0, sutura contínua tipo chuleio simples.

FIGURA 7 - DEFEITO DA PAREDE ABDOMINAL EM ANIMAL DO GRUPO EXPERIMENTO



NOTA: animal 6, grupo experimento subgrupo seis meses de PO, submetido a ressecção da parede abdominal mimetizando um defeito extenso da mesma.

FIGURA 8 – CORREÇÃO DO DEFEITO DA PAREDE ABDOMINAL COM ENXERTO ALÓGRAFO HOMÓLOGO DE DIAFRAGMA



NOTA: animal 6, grupo experimento subgrupo seis meses de PO, após sutura do enxerto homólogo congelado de diafragma.

3.8 PROCEDIMENTO PÓS-OPERATÓRIO

Terminado o procedimento cirúrgico, os animais permaneceram 30 minutos em jejum e ficaram isolados até sua recuperação anestésica, sendo após alojados em gaiolas com capacidade para cinco animais com água e ração *ad libitum*, e analgesia com dipirona sódica (50mg/kg/dia) por período de 5 dias de pós-operatório.

3.9 AVALIAÇÃO DIÁRIA

A avaliação diária constou de observação do aspecto da ferida operatória quanto à presença de hematoma, infecção, deiscência de pele e/ou evisceração, herniações da parede abdominal, necrose do enxerto e óbito.

3.10 EUTANÁSIA DOS ANIMAIS

Foram sorteados os ratos para eutanásia no 7°, 14°, 21°, 90° e 180° dias de pós-operatório nos grupos controle e experimento, constituindo, respectivamente, os subgrupos CA (controle A = eutanásia no 7° dia de PO), CB (controle B = eutanásia no 14° dia de PO), CC (controle C = eutanásia no 21° dia de PO), CD (controle D = eutanásia no 90° dia de PO), CE (controle E = eutanásia no 180° dia de PO), EA (experimento A = eutanásia no 7° dia de PO), EB(experimento A = eutanásia no 14° dia de PO), EC(experimento A = eutanásia no 21° dia de PO), ED(experimento A = eutanásia no 90° dia de PO), EE(experimento A = eutanásia no 180° dia de PO). A eutanásia foi realizada com éter etílico puro sob campânula até constatação do óbito.

3.11 VALIAÇÃO INICIAL

Na avaliação inicial *post mortem* foram aferidos o peso, a presença de herniações ventrais e os aspectos da ferida cirúrgica.

3.12 AVALIAÇÃO MACROSCÓPICA

A diérese foi realizada em toda a extensão da parede lateral do abdômen, mantendo a integridade da parede anterior e avaliando a presença de aderências ou outras alterações macroscópicas intra-abdominais, tais como abscesso intracavitário, volvo e estenose. As aderências foram classificadas segundo o sistema de escore semiquantitativo de adesão desenvolvido por Jenkins *et al.* (1983).

QUADRO 2 - SISTEMA SEMIQUANTITATIVO DE ESCORE DE ADESÃO

ESCORE	TENACIDADE	ÁREA DE SUPERFÍCIE
0	sem aderências	sem aderências
1	Mínimas aderências liberadas por dissecção romba	< 25%
2	Moderadas aderências liberadas por agressiva dissecção romba	< 50%
3	Densas aderências liberadas por secção	< 75%
4	--	> 75%

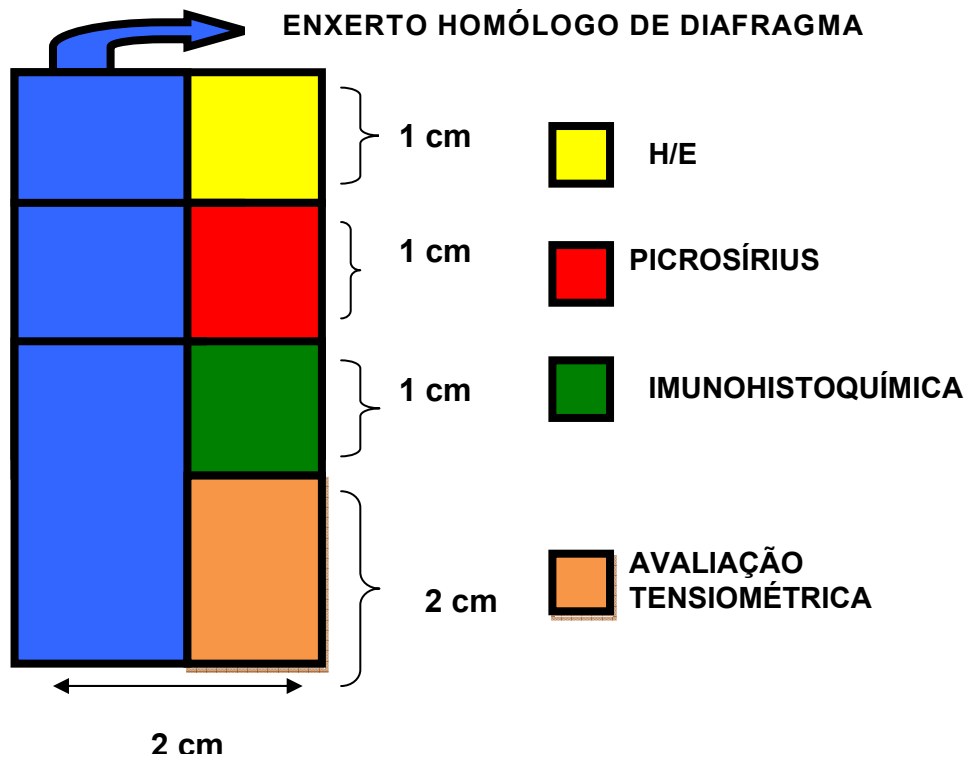
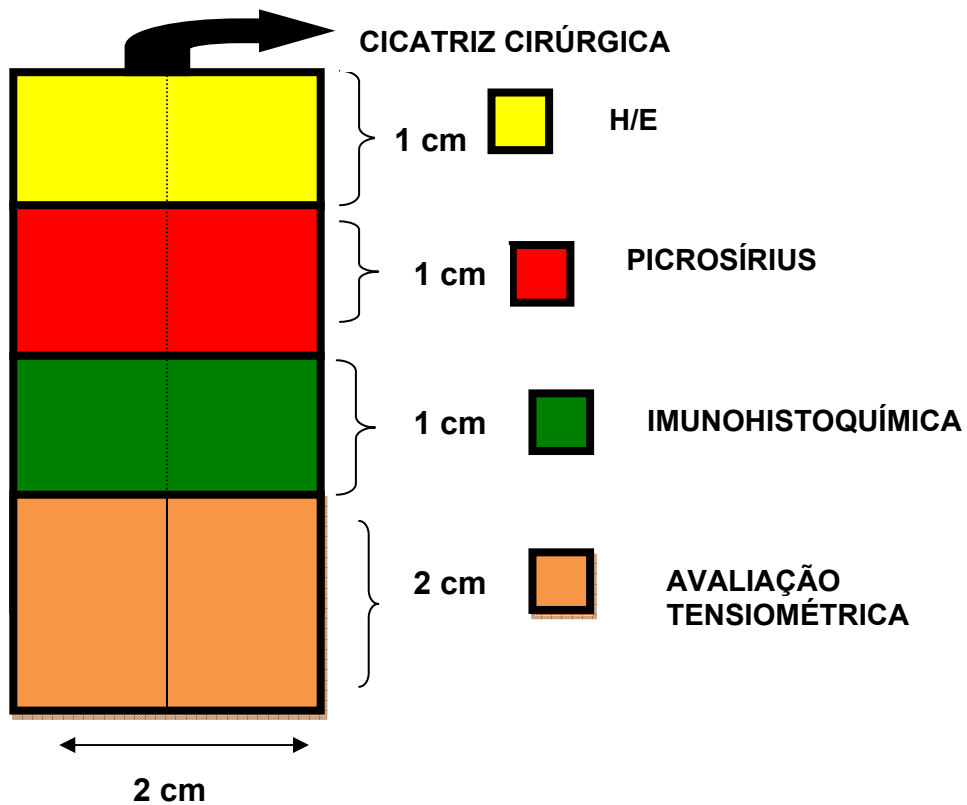
FONTE: JENKINS, S. D. *et al.* A comparison of prosthetic materials used to repair abdominal wall defects. *Surgery*, St. Louis, v.94, n.2, p.392-397, Aug. 1983.

3.13 PREPARO DOS FRAGMENTOS PARA ESTUDO

A ressecção do abdômen anterior foi feita em bloco de todo segmento músculo-aponeurótico, incluindo o enxerto (grupo experimento) ou cicatriz cirúrgica (grupo controle). Os segmentos foram estendidos em papel filtro e divididos em quatro partes, sendo três fragmentos de um centímetro de altura por dois centímetros de largura e um fragmento com dois centímetros de altura por dois centímetros largura.

Os fragmentos menores foram encaminhados para análises histológicas (picrosírius, H/E e imunohistoquímica: actina sarcomérica, calponina, HHF-35) e o maior para avaliação mecânica tensiométrica. A figura 9 apresenta um esquema ilustrativo da divisão dos fragmentos estudados.

FIGURA 9 – DIVISÃO DOS FRAGMENTOS ESTUDADOS

GRUPO EXPERIMENTO**GRUPO CONTROLE**

3.14 AVALIAÇÃO DA RESISTÊNCIA

Os corpos de prova (fragmento central) foram preparados conforme técnica descrita por Nash (1972) e Naresse *et al.* (1987). Objetivando facilitar a manipulação dos fragmentos na máquina de tração foram realizados pontos separados com fio de nylon 3.0 nos ângulos do fragmento (FIGURA 10). Os corpos de prova foram acondicionados em frascos com solução fisiológica 0,9%, transportados em geladeiras térmicas e, imediatamente submetidos aos ensaios tensiométricos. As análises foram realizadas em máquina de tração computadorizada, marca Instron®, modelo 4467 – Pat: 158466, com garras de pressão pneumática e capacidade para três toneladas, no Laboratório de Ensaios Mecânicos do Instituto de Tecnologia para Desenvolvimento (LACTEC) do Centro Politécnico da Universidade Federal do Paraná (FIGURA 11). Os corpos de prova foram colocados nas garras no sentido transversal à linha de sutura. A célula de carga utilizada foi para dez kilogramas e a sensibilidade de 50 gramas. A velocidade da tração utilizada foi de 100.000 mm/min. A temperatura ambiente foi mantida constante em 22° C, com umidade relativa do ar em 50%.

Consideraram-se como parâmetros:

1. Força Máxima: definida como a força máxima suportada pelo tecido antes do início de sua ruptura.
2. Força de Ruptura: força requerida para romper, completamente, um tecido ou parede sem considerar suas dimensões.
3. Tensão: medida em termos de quantidade de força suportada por unidade de área de secção, ou seja, é dependente das dimensões do tecido e permite comparações mais adequadas entre corpos de prova retirados de espécimes diferentes. Pode ser dado em libras/polegada², quilograma/m², quilogramas/mm² ou MPa. Tanto a força de ruptura como a máxima são medidas N ou quilogramas-força (VAN WINKLE, 1969).

FIGURA 10 - PREPARO DO ENXERTO PARA ESTUDO DA TRAÇÃO



NOTA: corpo de prova de animal 8, grupo experimento subgrupo 6 meses, submetidos a reparo com fios de nylon 3.0 em seus ângulos para melhor posicionamento nas garras da máquina de tração.

FIGURA 11 - MÁQUINA DE TRAÇÃO



FONTE: LACTEC

NOTA: máquina de tração computadorizada, marca Instron®, modelo 4467 – Pat: 158466.

3.15 AVALIAÇÃO MICROSCÓPICA

Os segmentos menores foram fixados em formalina tamponada a 10% e emblocados em parafina. Realizaram-se cortes com cinco micrômetros de espessura, sendo dispostos três cortes histológicos sobre cada lâmina, em um total de duas lâminas para cada animal analisado. Uma das lâminas foi submetida à coloração de hematoxilina-eosina para avaliação geral do processo cicatricial e outra a coloração com *Sirius-red* ou picrosírius para mensuração do colágeno. As avaliações de imunohistoquímica foram processadas pelo método de *Tissue Microarray Artesanal* (TMA) descrito posteriormente.

3.15.1 Técnica de hematoxilina-eosina

Nos cortes histológicos corados pela hematoxilina-eosina analisaram-se a reação inflamatória, sua qualidade e intensidade. Realizaram-se análise de três campos em cada corte histológico e neles contaram-se 100 células, com aumento de 400 vezes. A avaliação da qualidade da reação inflamatória fez-se pelo tipo de células presentes. O predomínio de polimorfonucleares (PMN) caracterizou a reação inflamatória aguda, de monomorfonucleares (MMN) a reação inflamatória crônica e, não havendo predomínio de nenhum destes tipos, a reação inflamatória agudo-crônica.

3.15.2 Morfometria do colágeno

Os cortes histológicos corados pelo *Syrius-Red* foram analisados em microscópio de luz polarizada, marca Olympus®, com aumento de 200 vezes em dois campos na área de cicatrização e foram captadas por câmara Sony® CCD Íris, sendo enviadas ao monitor (Mídia Cibernética) em computador do tipo Pentium® III 733 MHz, no Laboratório de Anatomia Patológica do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná.

A calibração do sistema foi baseada na densidade ótica dos pontos de resolução (*pixels*) que formam as imagens, selecionando-se o valor limite de melhor resolução (*threshold*). Quatro campos com ampliação de 400 vezes, localizados nas

porções superior, inferior, lateral direita e lateral esquerda, foram escolhidos para cada lâmina. No sistema RGB (*red, green, blue*) foram considerados valores para preto (fundo), para tons laranja-vermelho (colágeno I) e para os tons verde (colágeno III). Áreas entre os valores 0 – 50 para vermelho, 0 – 50 para o verde e 0 – 80 para o azul foram interpretados como preto. Limites de 70 – 225 para o vermelho, 0 – 102 para o verde, 0 – 115 para o azul foram considerados para as tonalidades de vermelho do corte histológico e corresponderam às fibras de colágeno tipo I. Valores determinados de 4 – 110 para o vermelho, 51 – 225 para o verde e 42 – 125 para o azul corresponderam aos tons de verde, gerado pelas fibras do colágeno tipo III (JUNQUEIRA; BIGNOLAS; BRENTANI, 1979). A quantidade de fibras avermelhadas e esverdeadas presentes nos cortes histológicos permitiu a realização do cálculo do percentual da área do campo examinado ocupada por estas fibras. O valor de colágeno total correspondeu à soma dos valores das áreas vermelhas e verdes. A leitura das amostras realizou-se com 200 aumentos.

A percentagem de área ocupada pelo colágeno tipo I – maduro (fibras espessas e fortemente birrefringentes com coloração avermelhada) e pelo colágeno tipo III – imaturo (fibras finas e dispersas, fracamente birrefringentes com coloração esverdeada) foi calculada para cada animal, considerando-se que esta percentagem era proporcional à quantidade de cada tipo de fibra presente nos cortes histológicos (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2000).

Foi também empregado o Índice de Maturação do Colágeno – IMaC, que se baseia nas percentagens de colágeno tipo I e tipo III, sendo definido como a razão entre essas percentagens (LEMOS, 2002), de acordo com a fórmula:

$$\text{IMaC} = \frac{\% \text{ de Colágeno Tipo I - Maduro}}{\% \text{ de Colágeno Tipo III - Imaturo}}$$

Valores maiores do que um indicam que a percentagem de colágeno tipo I é maior do que a percentagem de colágeno tipo III (QUADRO 3).

QUADRO 3 - VARIAÇÕES DO ÍNDICE DE MATURAÇÃO DO COLÁGENO (IMaC) – DE 0 A MAIS INFINITO ($+\infty$)

IMaC	% Colágeno Tipo I - Maduro	% de Colágeno Tipo III - Imaturo
0	0	100
$+\infty$	100	0

FONTE: LEMOS, I. C. M. C. **Influência da desnutrição intra-uterina na cicatrização da parede abdominal de ratos lactentes avaliada mediante estudo tensiométrico e da morfometria do colágeno.** 89 f. Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2002.

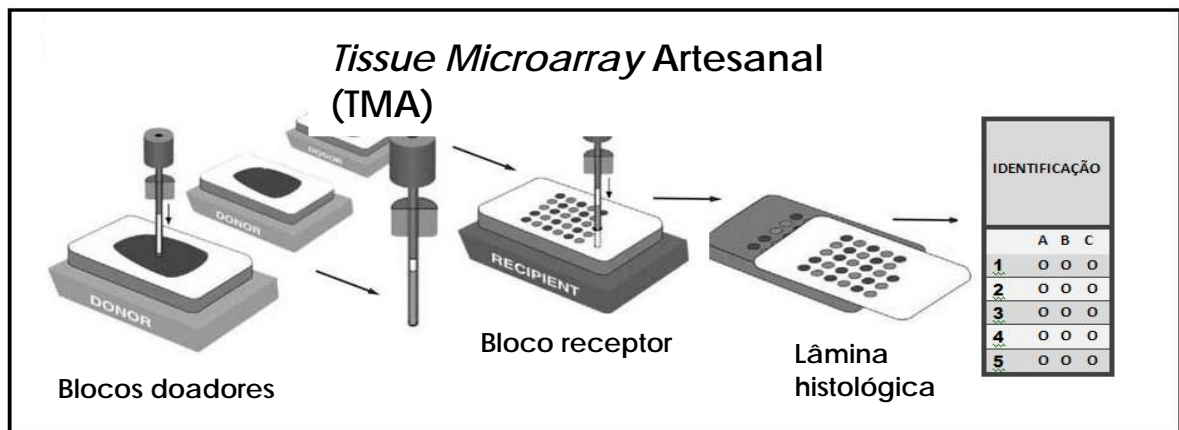
NOTA: $+\infty$ corresponde a maior porcentagem de colágeno tipo I.

3.15.3 *Tissue Microarray* Artesanal (TMA)

Utilizou-se a técnica de *Tissue Microarray* Artesanal (TMA) ou multiamostrais. Este método se iniciou a partir da separação de múltiplas amostras e a junção de todos em um bloco de parafina comum utilizando-se uma máquina artesanal. A técnica completa, desde o início até a realização dos cortes histológicos, seguiu dos seguintes passos.

O TMA consistiu na seleção de áreas doadoras através da observação de lâminas em hematoxilina-eosina provenientes dos blocos-doadores de cada um dos casos dos dois grupos divididos nos seus cinco subgrupos. As lâminas confeccionadas foram dirigidas ao patologista, para observação das mesmas e localização de regiões representativas da transição enxerto (grupo experimento) e transição área de sutura da parede abdominal (grupo controle), sendo que estas áreas (duas para cada caso) foram marcadas com caneta de retroprojeção. Através do sistema de espelho, a lâmina marcada foi utilizada para localização da região de interesse nos blocos-doadores. Para que as amostras de TMA fossem posteriormente localizadas no bloco-receptor, conforme sua identificação inicial, foi confeccionado um mapa que serviu de apoio, do tipo plano cartesiano, onde as colunas foram identificadas com as letras A, B e C (uma para cada amostra, sendo 3 amostras por caso), e as linhas com números, representando os casos do grupo. (AZEVEDO, MLV; NORONHA, L. 2006) (FIGURA 12)

FIGURA 12 – ESQUEMA DE CONFEÇÃO DAS LÂMINAS *TISSUE MICROARRAY* ARTESANAL (TMA)



FONTE: ANDRADE, V.P *et al.* O arranjo em matriz de amostras teciduais (tissue microarray): larga escala e baixo custo ao alcance do patologista. **J Bras Patol Med Lab**, v.43, p. 55-60, 2007.

Uma vez montado o mapa, os blocos-doadores foram organizados na bancada anexa aquela da confecção do bloco-receptor, conforme o mapa, da forma que foram utilizados em seqüência, para montagem do bloco-receptor final. Este processo de organização minimizou possíveis erros na localização das amostras durante a montagem do bloco-receptor. Utilizando-se de um *punch* de 3mm pré-aquecido foi retirado amostras do bloco-doador (2 amostras de cada caso), que foram inseridas numa caixa identificadora para após ser montado o bloco-receptor.

As duas amostras retiradas de um bloco-doador foram colocadas no bloco-receptor conforme o mapa pré estabelecido. Este procedimento facilitou a leitura das lâminas histopatológicas que foram posteriormente confeccionadas a partir destes blocos de TMA (blocos-receptores) para os ensaios imunopatológicos.

Após a confecção do bloco-receptor foram feitas as lâminas histológicas convencionais (hematoxilina-eosina), onde a imagem formada se referia a um espéculo do mapa e, posteriormente, lâminas para a realização das provas imunoistoquímicas.

As lâminas preparadas por TMA artesanal foram submetidas ao processo de imunohistoquímica. Este processo foi dividido em três fases distintas: padronização da técnica de imunoistoquímica em TMA para os anticorpos selecionados para o estudo, aplicação da técnica de imunoistoquímica padronizada no material do estudo e leitura das lâminas do TMA artesanal.

3.15.4 Avaliação Imunohistoquímica

Utilizou-se para o estudo imunohistoquímico lâminas eletricamente marcadas para evitar o descolamento dos cortes histológicos durante a coloração. Os anticorpos foram diluídos com diluente de anticorpos Dakocytomation®, que consiste em um tampão Tris-HCL 0.05M contendo 0,1% de Tween, proteína transportadora, para reduzir a coloração de fundo (background) e Azida Sódica 15mM.

Empregou-se, como anticorpo secundário, o EnVision®+Dual Link/Peroxidase, marca Dakocytomation®. Este reagente contém imunoglobulinas de cabra anti-coelho e anti-camundongo, conjugadas a um polímero marcado com peroxidase, em tampão Tris-HCL, contendo proteína carreadora e um agente antimicrobiano.

Utilizou-se como cromógeno, para revelar as reações, o 3,3'-diaminobenzidina ou DAB; Sistema Substrato-Cromógeno marca Dakocytomation®. Este substrato-cromógeno é um sistema DAB de alta sensibilidade adequado para a utilização em imunohistoquímica, baseada na peroxidase e nos métodos de coloração por hibridização *in situ*. Na oxidação, o DAB forma um produto final marrom no sítio do antígeno. Na preparação do reagente adicionamos 1ml de substrato tamponado para cada gota de DAB cromógeno.

Foram utilizados os seguintes anticorpos primários:

1. Anticorpo monoclonal *Muscle Specific Actin* (HHF35) (DakoCytomation®);
2. Anticorpo monoclonal Anti-Sarcomeric Actin – ACTINA SARCOMÉRICA (DakoCytomation®);
3. Anticorpo monoclonal Anti-Human Calponin – CALPONINA (DakoCytomation®);

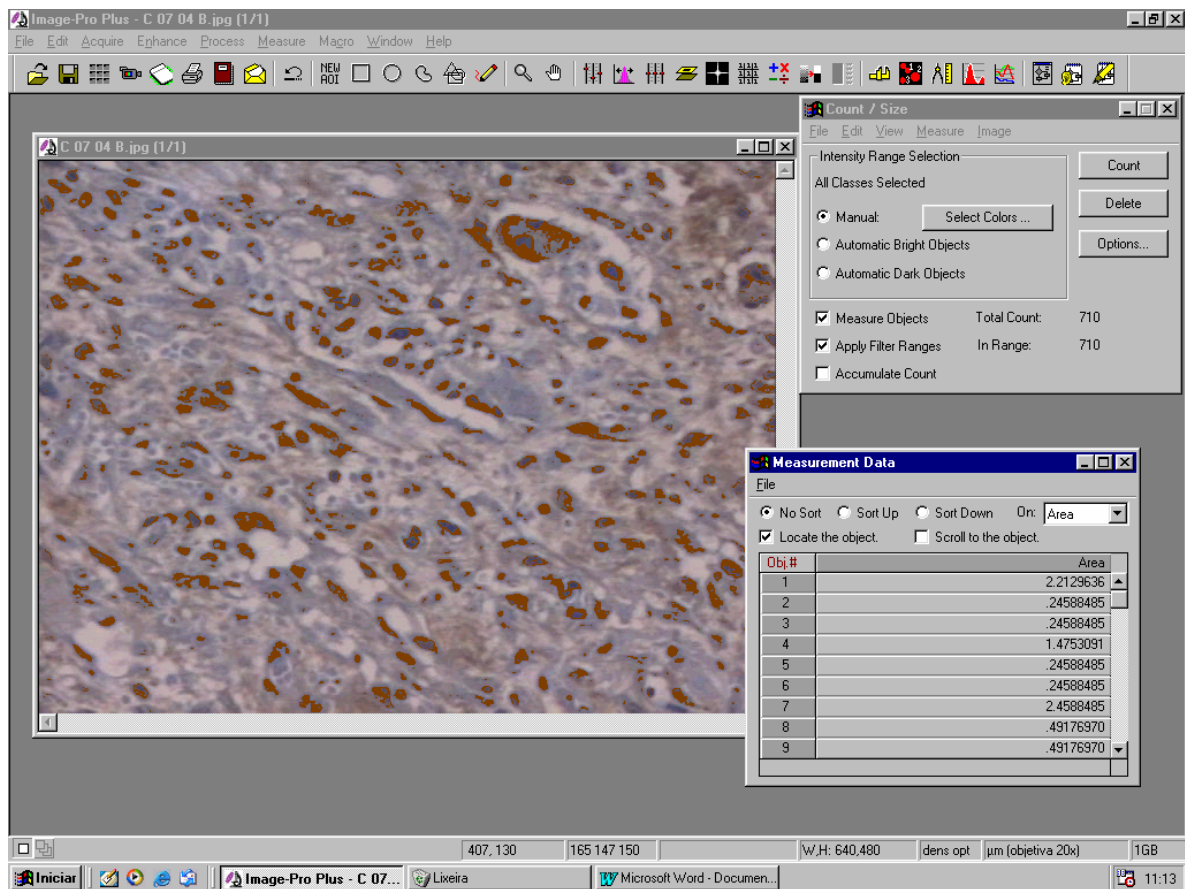
A positividade da coloração imunohistoquímica foi identificada nas áreas de pigmentação acastanhada. Controles positivos e negativos foram utilizados.

Nesta fase foi montado um TMA com controles sabidamente positivos para cada um dos anticorpos escolhidos. Depois da leitura dos controles e certificação de que os anticorpos estavam com boa confiabilidade de coloração, a técnica foi aplicada no material do estudo sempre pareada com controles positivos e negativos.

Os TMA corados pelos anticorpos foram analisados através de microscópio óptico da marca Zeiss®, em aumento de 20 vezes, em quatro campos distintos, aleatoriamente, para cada amostra (duas amostras por caso). Total de 880 fotos avaliadas.

As imagens digitalizadas foram capturadas e analisadas pelo programa *Image Pro Plus* (Media Cybernetics, Califórnia, EUA), para Windows, por meio da ferramenta “*Measures*”, calibrada previamente para objetiva 20X. Utilizou-se um sistema constituído por microscópio óptico Olympus BX50 (Olympus®, Tóquio, Japão), acoplado com câmera de vídeo Sony DXC-970MD (Sony®, Tóquio, Japão), conectado a computador da linha Pentium® e monitor colorido de alta resolução da marca Samsung (Samsung®, Coreia). Após reconhecimento pelo programa das áreas marcadas pelos anticorpos, a contagem foi realizada analisando as imagens uma a uma, por meio da ferramenta “*Manual Tag*”. Foi atribuída uma cor para essas áreas marcadas com a finalidade de facilitar a identificação do tecido muscular a ser reconhecido e calculado pelo programa. Dessa forma, foi definido para HHF-35 a cor azul, calponina marrom vivo e actina sarcomérica a cor rosa. A análise da positividade do marcador foi feita através da área de pontos positivos contados pelo computador que variou de zero a mais infinito. (FIGURA 13)

FIGURA 13 - CONTAGEM DE CALPONINA UTILIZANDO O PROGRAMA DE IMAGEM PRO PLUS. O TECIDO MUSCULAR LISO CORADO EM MARROM É RECONHECIDO E MARCADO COM CURSOR DO COMPUTADOR EM MARROM VIVO



3.16 DELINEAMENTO

Baseando-se nos eixos de pesquisa, o delineamento utilizado foi do tipo experimento controlado.

3.17 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Utilizou-se o teste t de *Student* considerando P estatisticamente significativa os valores menores ou iguais a 0,05. Foi também empregado o teste não-paramétrico de Mann-Whitney devido ao tamanho da amostra e sua distribuição não ser do tipo normal. Quando efetuou-se comparações entre duas variáveis, empregou-se o Teste Exato de Fisher, como nas comparações entre os grupos controle e experimento e, subgrupos 7, 14, 21, 90 e 180 dias de pós-operatório na

avaliação do Índice de Maturação do Colágeno e escores de aderência. Para avaliação de associações significativas entre as variáveis utilizaram-se Coeficientes de Regressão Logística. O teste de Pearson foi empregado na avaliação de correlações simples, ou seja, o quanto uma variável é dependente de outra, sendo sua variação estatisticamente significativa se valores de -1 a $+1$, zero foi considerado como ausência de correlação.

Para as variáveis de natureza quantitativa, quando da comparação dos grupos controle e experimento, em cada um dos momentos, foi considerado o teste não-paramétrico de Mann-Whitney. Para a comparação dos momentos de avaliação em cada um dos grupos, foi considerado o teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis. No caso da rejeição da hipótese de resultados iguais em todos os momentos, efetuou-se a comparação dos momentos dois a dois. Para avaliação da variável tenacidade, foi ajustado um modelo de Regressão Logística efetuando-se a comparação dos grupos em cada momento e a comparação dos momentos dentro de cada grupo. Para a variável IMaC as comparações entre os grupos e entre os momentos de avaliação foram feitas usando-se o teste exato de Fisher. Valores de $p < 0,05$ indicaram significância estatística. Nas comparações múltiplas feitas pelo teste exato de Fisher, o nível de significância foi corrigido por Bonferroni. Os dados foram organizados em planilha Excel e analisados com o programa computacional Statistica v.8.0. Para cada um dos grupos, considerando-se as variáveis quantitativas duas a duas, estimou-se o coeficiente de correlação de Spearman. Testou-se a hipótese nula de ausência de correlação entre as duas variáveis avaliadas, versus a hipótese alternativa de existência de correlação.

4 RESULTADOS

4.1 AVALIAÇÃO DAS COMPLICAÇÕES CIRÚRGICAS

Ausência de complicações cirúrgicas em todos dos casos.

4.2 AVALIAÇÃO DA INTEGRIDADE DO ENXERTO

O enxerto esteve íntegro em todos os animais do experimento.

4.3 AVALIAÇÃO DAS ADERÊNCIAS

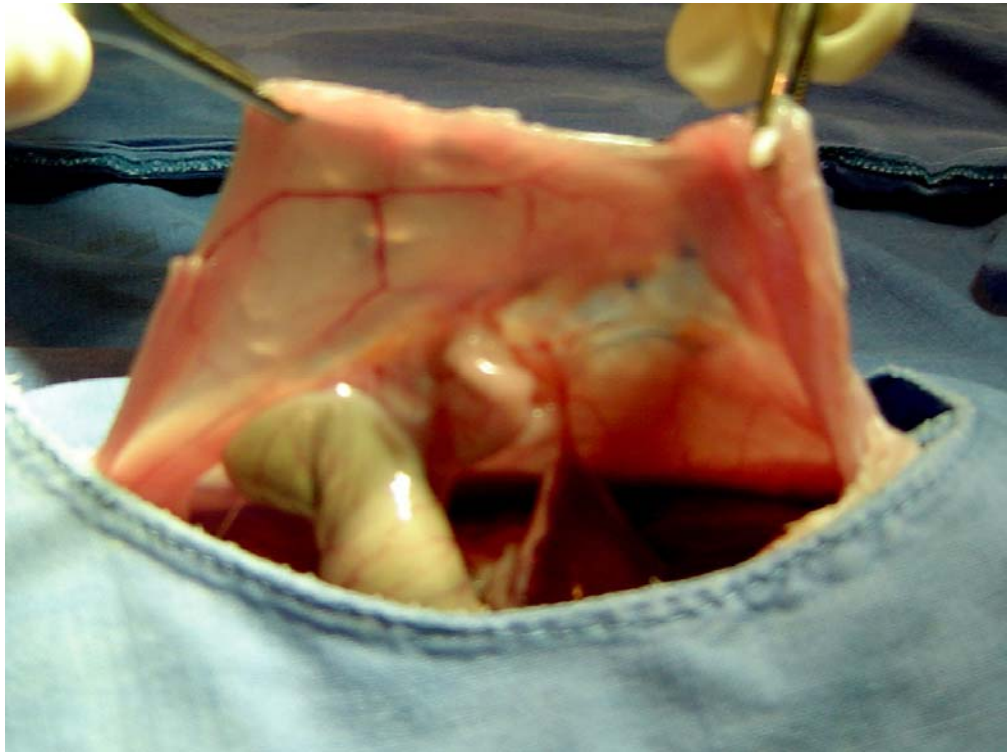
Em relação às aderências, que foram classificadas segundo o sistema de escore semiquantitativo de adesão desenvolvido por JENKINS *et al.* (1983), em nenhum caso, tanto no grupo controle quanto no grupo experimento, estiveram presentes aderências de grau II, III ou IV. Os dados relativos aos casos sem aderência ou com aderência grau I são apresentados na tabela 1.

Não houve diferença, entre os grupos e subgrupos, estatisticamente significativa. A figura 14 mostra um dos casos no qual o escore de aderência foi I.

TABELA 1 – ESCORE DE ADERÊNCIAS DA AMOSTRA

Subgrupo	Escore de aderências	Grupo experimento	Grupo controle	Total
7 dias	0	9 (90%)	8 (80%)	17 (85%)
7 dias	I	1 (10%)	2 (20%)	3 (15%)
14 dias	0	6 (60%)	6 (60%)	12 (60%)
14 dias	I	4 (40%)	4 (40%)	8 (40%)
21 dias	0	6 (60%)	5 (50%)	11 (55%)
21 dias	I	4 (40%)	5 (50%)	9 (45%)
90 dias	0	9 (60%)	7 (70%)	16 (64%)
90 dias	I	6 (40%)	3 (30%)	9 (33%)
180 dias	0	7 (46,7%)	4 (40%)	11 (44%)
180 dias	I	8 (53,3%)	6 (60%)	14 (56%)

FIGURA 14 – ESCORE DE ADERÊNCIA GRAU I EM RATOS DO GRUPO EXPERIMENTO APÓS 90 DIAS DE PÓS OPERATÓRIO



FONTE: IPEM – rato 2, grupo experimento, subgrupo três meses de pós-operatório. NOTA: Escore semiquantitativo de aderências preconizado por JENKINS *et al.*, 1983, demonstrando aderências grau I entre alças intestinais e borda hepática

4.4 AVALIAÇÃO DAS MEDIDAS TENSIO MÉTRICAS

O resultado da distribuição geral dos dados computados das medidas tensiométricas estão no quadro 7 (APÊNDICES), bem como exemplos da avaliação tensiométrica computadorizada (figura 20 e figura 21) das amostras realizadas no LACTEC (APÊNDICES). Na análise dos resultados da força máxima encontrou-se diferença estatisticamente significativa ($P=0,001$) entre experimento e grupo controle aos 14 dias e 90 dias de PO. Primeiramente, com valores maiores de força máxima no grupo controle (aos 14 dias de PO) e posteriormente, no grupo experimento (90 dias de PO). Por outro lado, ao ser feita a avaliação aos 7, 21 e 180 dias de PO o valor de P foi de 0,247, 0,739 e 0,849, respectivamente. (GRÁFICO 1 e TABELA 2)

Analisando os dados entre os subgrupos verificou-se tendência a aumento da força máxima conforme o aumento dos dias de avaliação PO conforme verificado no gráfico 1. Os resultados da avaliação entre os subgrupos foram estatisticamente significativos, exceto entre 7 e 14 dias de PO no grupo controle, 7 e 21 dias no grupo

experimento, 21 e 90 dias no grupo controle e 90 e 180 dias no grupo experimento. (TABELA 3)

TABELA 2 - COMPARAÇÃO DE FORÇA MÁXIMA ENTRE OS GRUPOS

Subgrupo	Grupo	n	Média	Mediana	Mínimo	Máximo	Desvio padrão	Valor de p*
7 dias	Controle	10	0,50	0,50	0,40	0,6	0,08	0,247
	Experimento	10	0,59	0,60	0,10	1,00	0,26	
14 dias	Controle	10	0,61	0,45	0,30	1,30	0,36	0,001
	Experimento	10	0,23	0,12	0,10	1,20	0,34	
21 dias	Controle	10	0,75	0,75	0,60	0,90	0,13	0,739
	Experimento	10	0,79	0,80	0,40	1,20	0,26	
90 dias	Controle	10	0,9	0,76	0,56	1,94	0,41	0,001
	Experimento	15	1,86	1,43	0,60	4,22	1,00	
180 dias	Controle	10	1,96	1,92	0,68	3,86	0,97	0,849
	Experimento	15	1,92	1,76	1,01	3,82	0,87	

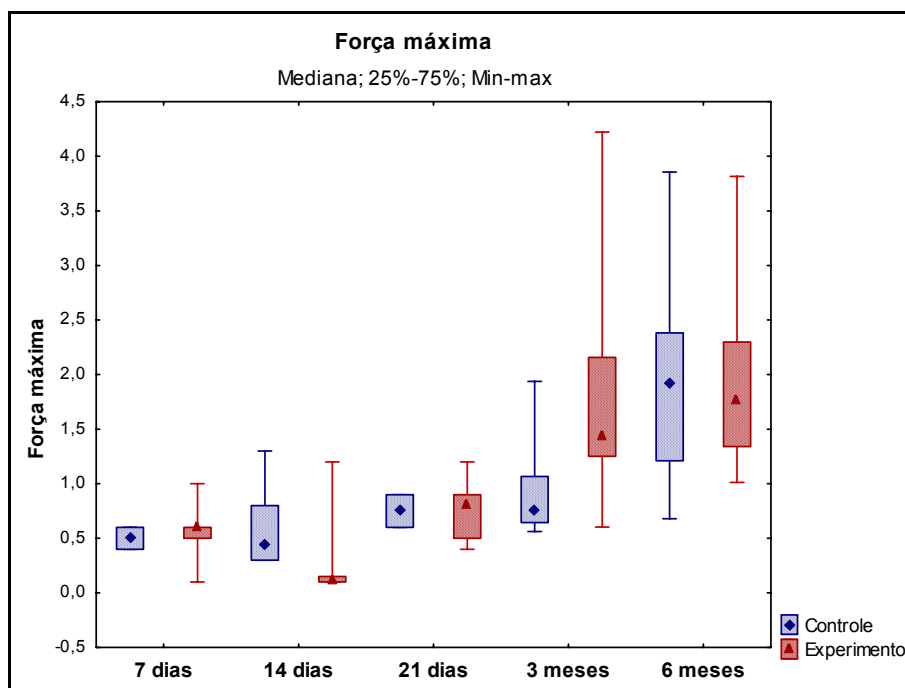
* Teste não-paramétrico de Mann-Whitney, $p < 0,05$

TABELA 3 - COMPARAÇÃO DE FORÇA MÁXIMA ENTRE OS SUBGRUPOS

	Subgrupos	Controle	Experimento
	7d x 14d x 21d x 90d x 180d	<0,001	<0,001
Força máxima	7d x 14d	0,284	0,034
	7d x 21d	0,001	0,199
	7d x 90d	<0,001	<0,001
	7d x 180d	<0,001	<0,001
	14d x 21d	0,022	0,001
	14d x 90d	0,008	<0,001
	14d x 180d	0,001	<0,001
	21d x 90d	0,698	<0,001
	21d x 180d	0,001	<0,001
	90d x 180d	0,003	0,516

FONTE: LACTEC – Dados trabalhados pelo autor

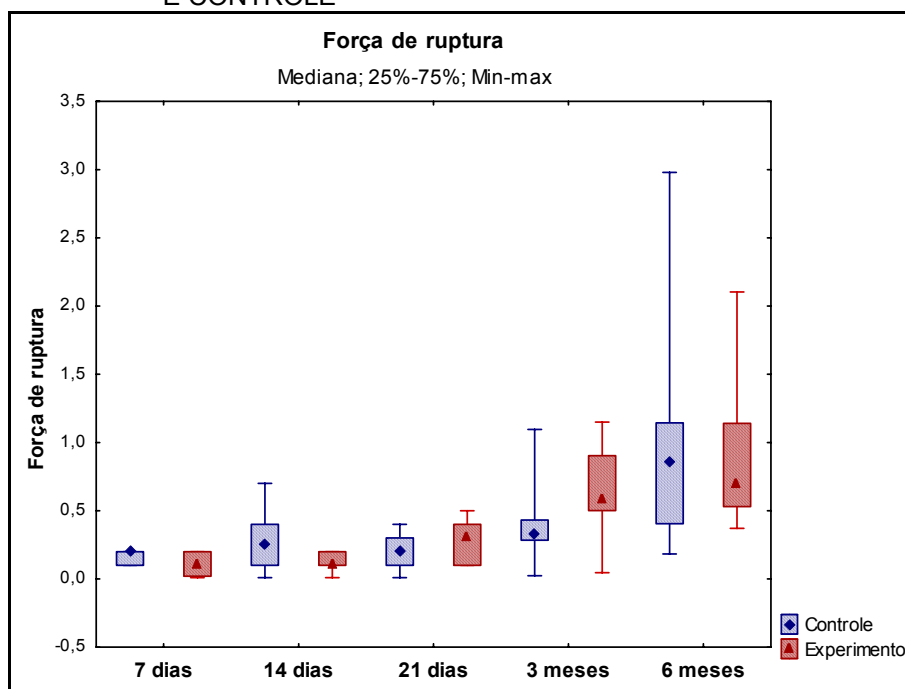
GRÁFICO 1 - AVALIAÇÃO DA FORÇA MÁXIMA NOS GRUPOS EXPERIMENTO E CONTROLE



FONTE: LACTEC – Dados trabalhados pelo autor

Em relação aos resultados referentes à força de ruptura verificamos aumento progressivo dos valores nos períodos da cicatrização entre os grupos controle e experimento (GRÁFICO 2). Sendo que valores estatisticamente significantes só foram encontrados no grupo experimento aos 90 dias de PO ($P=0,012$). Na avaliação aos 180 dias a diferença entre os dois grupos não foi significativamente estatística ($P=0,978$) (TABELA 4).

GRÁFICO 2 – AVALIAÇÃO DA FORÇA DE RUPTURA NOS GRUPOS EXPERIMENTO E CONTROLE



FONTE: LACTEC – Dados trabalhados pelo autor

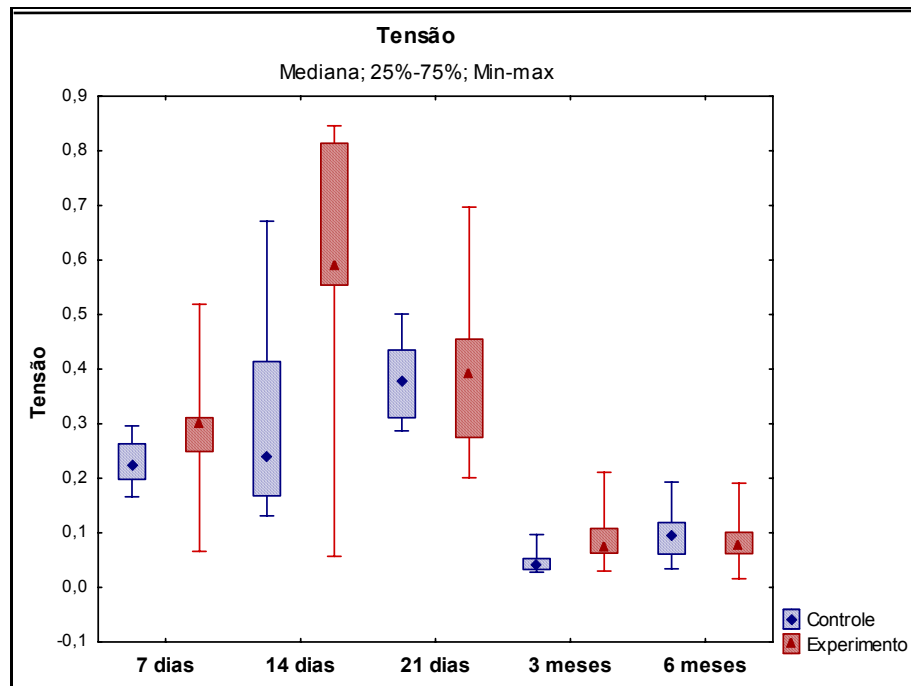
TABELA 4 - COMPARAÇÃO DA FORÇA DE RUPTURA ENTRE OS GRUPOS

Subgrupo	Grupo	n	Média	Mediana	Mínimo	Máximo	Desvio padrão	Valor de p*
7 dias	Controle	10	0,16	0,2	0,1	0,2	0,05	0,123
	Experimento	10	0,11	0,1	0,01	0,2	0,08	
14 dias	Controle	10	0,28	0,25	0,01	0,7	0,23	0,105
	Experimento	10	0,12	0,1	0,01	0,2	0,08	
21 dias	Controle	10	0,19	0,2	0,01	0,4	0,14	0,353
	Experimento	10	0,26	0,3	0,1	0,5	0,15	
90 dias	Controle	10	0,38	0,32	0,02	1,1	0,28	0,012
	Experimento	15	0,65	0,59	0,05	1,15	0,31	
180 dias	Controle	10	0,95	0,86	0,18	2,98	0,82	0,978
	Experimento	15	0,84	0,7	0,37	2,1	0,49	

* Teste não-paramétrico de Mann-Whitney, $p < 0,05$

A variável tensão mostrou padrão diferente das forças máxima e de ruptura com maiores valores nos períodos iniciais da cicatrização (7°, 14° e 21° dias), com pico no 14° dia de PO, como pode se observar no gráfico 3. Houve diferença estatística entre os grupos controle e experimento nos dias 7, 14 e 90 de PO, ou seja, maior tensão no grupo experimento nestes momentos de avaliação (TABELA 5).

GRÁFICO 3 – AVALIAÇÃO DA TENSÃO NOS GRUPOS EXPERIMENTO E CONTROLE



FONTE: LACTEC – Dados trabalhados pelo autor

TABELA 5 - COMPARAÇÃO DA TENSÃO ENTRE OS GRUPOS

Subgrupo	Grupo	n	Média	Mediana	Mínimo	Máximo	Desvio padrão	Valor de p*
7 dias	Controle	10	0,23	0,22	0,17	0,3	0,04	0,029
	Experimento	10	0,31	0,3	0,07	0,52	0,13	
14 dias	Controle	10	0,31	0,24	0,13	0,67	0,18	0,011
	Experimento	10	0,59	0,59	0,06	0,85	0,23	
21 dias	Controle	10	0,38	0,38	0,29	0,5	0,07	0,796
	Experimento	10	0,41	0,39	0,2	0,7	0,15	
90 dias	Controle	10	0,05	0,04	0,03	0,1	0,02	0,001
	Experimento	15	0,09	0,07	0,03	0,21	0,05	
180 dias	Controle	10	0,1	0,1	0,03	0,19	0,05	0,605
	Experimento	15	0,09	0,08	0,02	0,19	0,05	

* Teste não-paramétrico de Mann-Whitney, $p < 0,05$

As tabelas 6 e 7 demonstram as avaliações entre os subgrupos quanto a força de ruptura e tensão com resultados significativos estatisticamente com exceções na força de ruptura entre 7 e 14 e entre 90 e 180 dias, nos grupos controle e experimento e, entre 7 e 21, entre 14 e 21 dias e entre 14 e 90 dias, no grupo controle. Na variável tensão as exceções quanto a diferença entre os subgrupos se

deu entre 7 e 14 dias, no grupo controle e, entre 7 e 21, entre 14 e 21 e entre 90 e 180 dias de PO, no grupo experimento.

TABELA 6 - COMPARAÇÃO DE FORÇA DE RUPTURA ENTRE OS SUBGRUPOS

Força de ruptura	Subgrupos	Controle	Experimento
	7d x 14d x 21d x 90d x 180d	0,001	<0,001
	7d x 14d	0,153	0,741
	7d x 21d	0,579	0,023
	7d x 90d	0,010	<0,001
	7d x 180d	<0,001	<0,001
	14d x 21d	0,376	0,049
	14d x 90d	0,226	<0,001
	14d x 180d	0,004	<0,001
	21d x 90d	0,039	<0,001
	21d x 180d	<0,001	<0,001
	90d x 180d	0,072	0,205

NOTA: O valor de p considerado estatisticamente significativo = $p < 0,05$

TABELA 7 - COMPARAÇÃO DE TENSÃO ENTRE OS SUBGRUPOS .

Tensão	Subgrupos	Controle	Experimento
	7d x 14d x 21d x 90d x 180d	<0,001	<0,001
	7d x 14d	0,185	0,017
	7d x 21d	<0,001	0,244
	7d x 90d	<0,001	<0,001
	7d x 180d	<0,001	<0,001
	14d x 21d	0,008	0,209
	14d x 90d	<0,001	<0,001
	14d x 180d	<0,001	<0,001
	21d x 90d	<0,001	<0,001
	21d x 180d	<0,001	<0,001
	90d x 180d	0,009	0,913

NOTA: O valor de p considerado estatisticamente significativo = $p < 0,05$

Dado interessante observado em todas as variáveis de resistência é o maior valor tanto de força máxima, como de força de ruptura e de tensão no grupo experimento no 90° dia de PO (TABELAS 2, 4 e 5).

Na avaliação dos subgrupos todas as variáveis de resistência (força máxima, tensão e força de ruptura) apresentaram diferenças estatisticamente significantes em quase todas as comparações, sendo coincidentes, entre 7 e 90, entre 7 e 180, entre 14 e 180, e entre 21 e 180 dias de PO nos grupos controle e experimento. As exceções ocorreram, e as que foram coincidentes encontraram-se entre 7 e 14 dias,

no grupo controle, e entre 90 e 180 dias, no grupo experimento, ou seja, não houve diferença estatística entre os grupos controle e experimento, coincidentemente, nesses momentos para todas as variáveis de resistência (TABELA 3, 6 e 7).

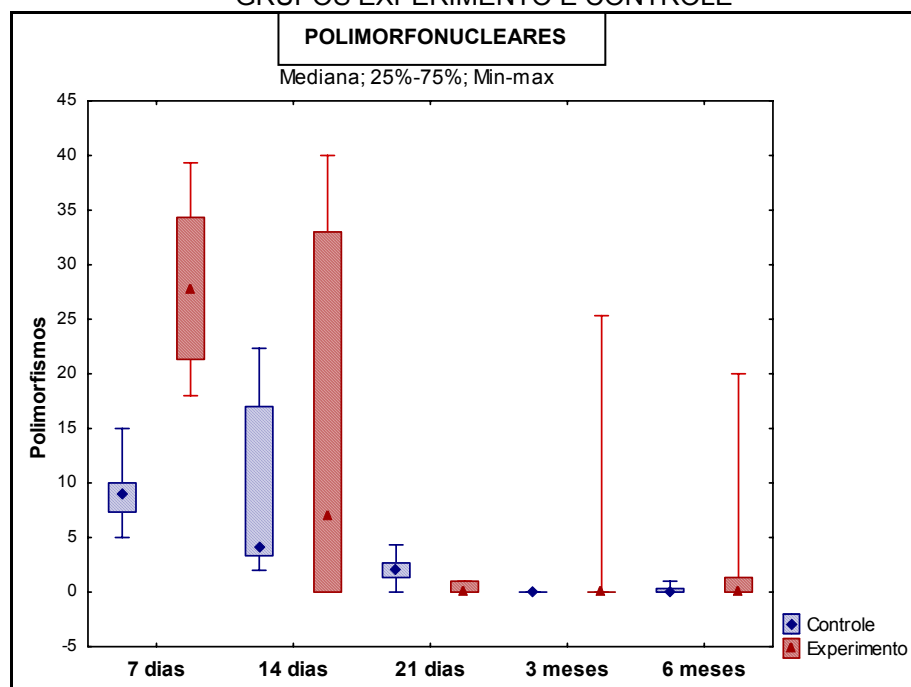
4.5 AVALIAÇÃO HISTOPATOLÓGICA

Os resultados da distribuição geral dos dados computados da avaliação histopatológica estão no quadro 5 (APÊNDICES).

Na avaliação da distribuição de polimorfonucleares (PMN), verificou-se predomínio destes com $p < 0,001$ no grupo experimento ao 7º dia de PO. Já no 21º dia de PO, ainda há diferença estatística ($p = 0,001$), mas a concentração destas células se dá no grupo controle. (GRAFICO 4 e TABELA 8).

Quanto a avaliação entre os subgrupos houve redução do número de PMN nas fases tardias da cicatrização, mais evidente no grupo controle, com resultados estatisticamente significantes. (TABELA 9)

GRÁFICO 4 – AVALIAÇÃO DOS POLIMORFONUCLEARES NOS GRUPOS EXPERIMENTO E CONTROLE



FONTE: Serviço de Patologia HC de Curitiba

TABELA 8 - AVALIAÇÃO DOS POLIMORFONUCLEARES ENTRE OS GRUPOS

Subgrupo	Grupo	n	Média	Mediana	Mínimo	Máximo	Desvio padrão	Valor de p*
7 dias	Controle	10	9,13	9	5	15	2,79	<0,001
	Experimento	10	27,97	27,67	18	39,33	6,93	
14 dias	Controle	10	8,73	4,17	2	22,33	8,32	0,912
	Experimento	10	13,87	7	0	40	16,54	
21 dias	Controle	10	2,07	2	0	4,33	1,26	0,001
	Experimento	10	0,3	0	0	1	0,48	
90 dias	Controle	10	0	0	0	0	0	0,428
	Experimento	15	3,26	0	0	25,33	7,66	
180 dias	Controle	10	0,2	0	0	1	0,36	0,849
	Experimento	15	2,67	0	0	20	5,98	

* Teste não-paramétrico de Mann-Whitney, $p < 0,05$

TABELA 9 - AVALIAÇÃO DOS POLIMORFONUCLEARES ENTRE OS SUBGRUPOS

	Subgrupos	Controle	Experimento
	7d x 14d x 21d x 90d x 180d	0,001	<0,001
Polimorfonucleares	7d x 14d	0,053	0,009
	7d x 21d	<0,001	<0,001
	7d x 90d	<0,001	<0,001
	7d x 180d	<0,001	<0,001
	14d x 21d	<0,001	0,004
	14d x 90d	<0,001	0,002
	14d x 180d	<0,001	0,003
	21d x 90d	<0,001	0,994
	21d x 180d	<0,001	0,828
	90d x 180d	0,210	0,802

NOTA: O valor de p considerado estatisticamente significativo = $p < 0,05$. Observar que varias comparações foram altamente significativas estatisticamente, com $p < 0,01$

Os MMN apresentaram-se em quantidades menores nas fases tardias da cicatrização, porém, sem a redução progressiva verificada nos PMN, com picos no 14° e 21° dias de PO (GRAFICO 5). No estudo dos monomorfonucleares houve diferença estatisticamente significativa ($p=0,009$) entre os grupos controle e experimento no 14° dia de PO, sendo este predomínio no grupo controle. Por outro lado, no 180° dia o valor de P foi 0,031, porém, nesse caso, a maior quantidade de monomorfonucleares ocorreu no grupo experimento (TABELA 10). As avaliações entre os subgrupos encontram-se na tabela 11, e verificam-se predomínio, com $P < 0,05$ entre 7 e 90, entre 14 e 90, entre 21 e 90, e entre 21 e 180 dias PO nos grupos controle e experimento.

TABELA 10 - AVALIAÇÃO DOS MONOMORFONUCLEARES ENTRE OS GRUPOS

Subgrupo	Grupo	n	Média	Mediana	Mínimo	Máximo	Desvio padrão	Valor de p*
7 dias	Controle	10	20,73	19,83	9,67	31,33	7,41	0,315
	Experimento	10	16,83	15,83	7,67	24,67	6,2	
14 dias	Controle	10	31,03	29,67	21	48,33	7,54	0,009
	Experimento	10	20,17	19,83	2,33	49	12,68	
21 dias	Controle	10	30,33	29,5	12,33	45	9,84	0,165
	Experimento	10	25,6	23,33	13,67	50	9,84	
3 meses	Controle	10	3,43	3	0,67	7,67	2,49	0,238
	Experimento	15	7,82	3,33	0	24,67	8,12	
6 meses	Controle	10	6,57	6,33	3,67	11	2,45	0,031
	Experimento	15	13,28	10,33	4	34,67	8,86	

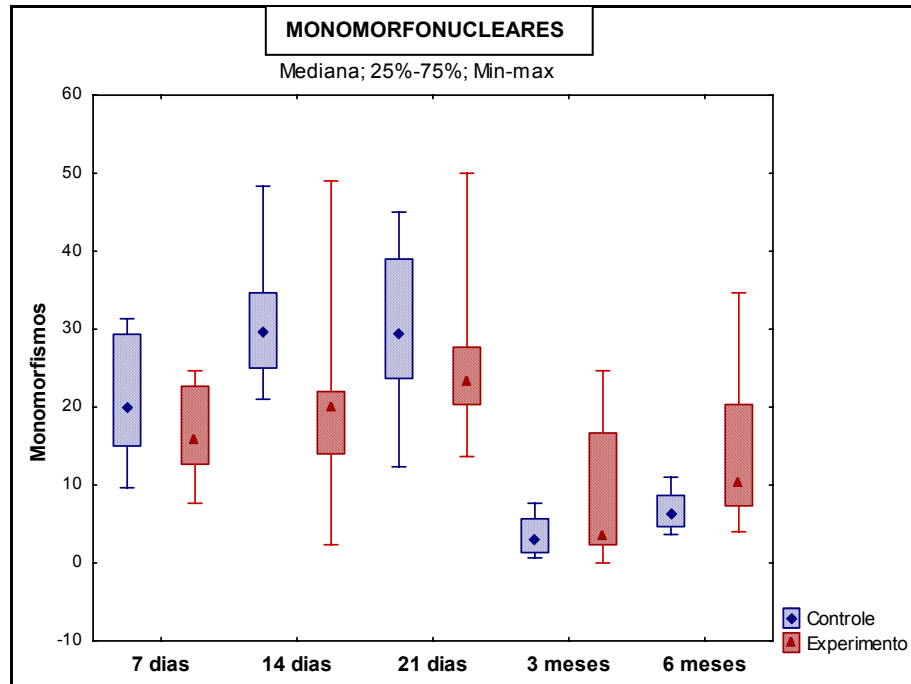
* Teste não-paramétrico de Mann-Whitney, $p < 0,05$

TABELA 11- ANÁLISE DOS MONOMORFONUCLEARES ENTRE OS SUBGRUPOS

	Subgrupos	Controle	Experimento
	7d x 14d x 21d x 90d x 180d	0,001	<0,001
Monomorfonucleares	7d x 14d	0,004	0,848
	7d x 21d	0,010	0,070
	7d x 90d	<0,001	0,003
	7d x 180d	<0,001	0,187
	14d x 21d	0,740	0,104
	14d x 90d	<0,001	0,002
	14d x 180d	<0,001	0,127
	21d x 90d	<0,001	<0,001
	21d x 180d	<0,001	0,001
	90d x 180d	0,068	0,051

NOTA: O valor de p considerado estatisticamente significativo = $p < 0,05$

GRÁFICO 5 - AVALIAÇÃO DOS MONOMORFONUCLEARES NOS GRUPOS EXPERIMENTO E CONTROLE



FONTE: Serviço de Patologia Hospital de Clínicas de Curitiba.

4.6 AVALIAÇÃO DO COLÁGENO

Os resultados da distribuição geral dos dados computados da avaliação do colágeno estão no quadro 6 (APÊNDICES).

Nos subgrupos 7 dias e 21 dias de PO houve predomínio de colágeno tipo III, no grupo experimento, com valores de $P < 0,001$ (tabela 14). Quanto à avaliação do colágeno tipo I, observou-se na tabela 12, predomínio nos mesmo subgrupos (7 PO e 21 PO), mas evidente no grupo controle ($P < 0,001$). (GRAFICO 6 e 7). Nas tabelas 15 e 13 pode-se verificar a redução progressiva da quantidade do colágeno tipo III e aumento do colágeno tipo I com o passar dos dias do PO, com diferenças estatísticas entre os subgrupos na quantidade dos colágenos.

TABELA 12 - AVALIAÇÃO DO COLÁGENO TIPO I NOS GRUPOS

Subgrupo	Grupo	n	Média	Mediana	Mínimo	Máximo	Desvio padrão	Valor de p*
7 dias	Controle	10	40,36	40,97	27,35	49,73	6,74	<0,001
	Experimento	10	6,71	6,47	1,15	13,45	3,42	
14 dias	Controle	10	38,75	38,61	25,55	56,04	10,76	0,123
	Experimento	10	29,3	29,70	14,35	39,72	7,68	
21 dias	Controle	10	58,98	59,92	47,64	74,09	8,92	<0,001
	Experimento	10	36,89	33,88	30,36	48,85	6,16	
90 dias	Controle	10	24,30	23,18	10,76	37,34	8,28	1
	Experimento	15	31,14	19,71	2,78	71,56	22,64	
180 dias	Controle	10	73,55	77,04	53,75	87,96	10,8	0,367
	Experimento	15	75,74	80,72	42,72	89,73	12,88	

* Teste não-paramétrico de Mann-Whitney, $p < 0,05$

TABELA 13 - AVALIAÇÃO DO COLÁGENO TIPO I ENTRE OS SUBGRUPOS

Colágeno maduro – tipo I (%)	Subgrupos	Controle	Experimento
	7d x 14d x 21d x 90d x 180d	<0,001	<0,001
	7d x 14d	0,673	<0,001
	7d x 21d	<0,001	<0,001
	7d x 90d	<0,001	<0,001
	7d x 180d	<0,001	<0,001
	14d x 21d	<0,001	0,132
	14d x 90d	<0,001	0,952
	14d x 180d	<0,001	<0,001
	21d x 90d	<0,001	0,112
	21d x 180d	0,014	<0,001
	90d x 180d	<0,001	<0,001

NOTA: O valor de p considerado estatisticamente significativo = $p < 0,05$.

TABELA 14 - AVALIAÇÃO DO COLÁGENO TIPO III ENTRE OS GRUPOS

Subgrupo	Grupo	n	Média	Mediana	Mínimo	Máximo	Desvio padrão	Valor de p*
7 dias	Controle	10	59,64	59,03	50,27	72,65	6,74	<0,001
	Experimento	10	93,29	93,53	86,55	98,85	3,42	
14 dias	Controle	10	61,25	61,39	43,96	74,45	10,76	0,123
	Experimento	10	70,70	70,3	60,28	85,65	7,68	
21 dias	Controle	10	41,02	40,08	25,91	52,36	8,92	<0,001
	Experimento	10	63,11	66,12	51,15	69,64	6,16	
90 dias	Controle	10	75,70	76,82	62,66	89,24	8,28	1
	Experimento	15	68,86	80,29	28,44	97,22	22,64	
180 dias	Controle	10	26,42	22,96	12,04	46,25	10,78	0,367
	Experimento	15	24,26	19,28	10,27	57,28	12,88	

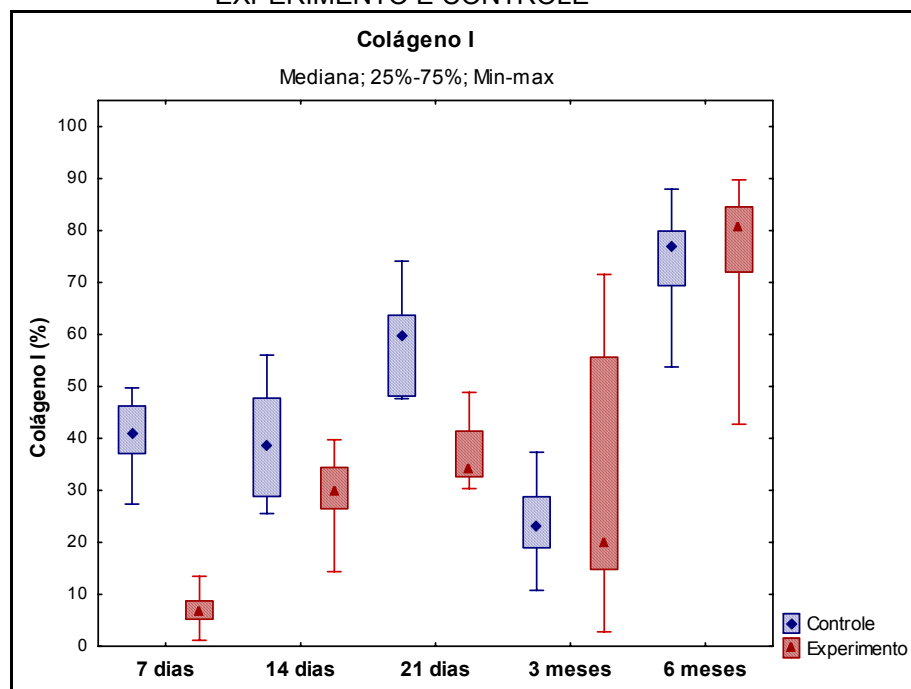
* Teste não-paramétrico de Mann-Whitney, $p < 0,05$

TABELA 15 - AVALIAÇÃO DO COLÁGENO TIPO III ENTRE OS SUBGRUPOS

Colágeno imaturo - tipo III (%)	Subgrupos	Controle	Experimento
	7d x 14d x 21d x 90d x 180d	<0,001	<0,001
	7d x 14d	0,673	<0,001
	7d x 21d	<0,001	<0,001
	7d x 90d	<0,001	<0,001
	7d x 180d	<0,001	<0,001
	14d x 21d	<0,001	0,132
	14d x 90d	<0,001	0,952
	14d x 180d	<0,001	<0,001
	21d x 90d	<0,001	0,112
	21d x 180d	0,014	<0,001
	90d x 180d	<0,001	<0,001

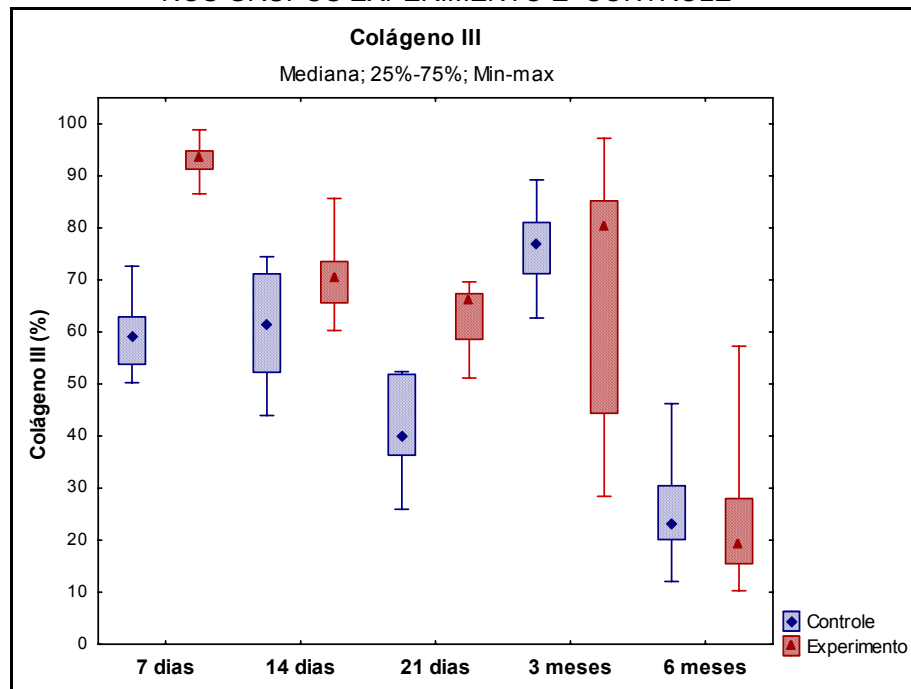
NOTA: O valor de p considerado estatisticamente significativo = $p < 0,05$

GRÁFICO 6- AVALIAÇÃO DO COLÁGENO TIPO I NOS GRUPOS EXPERIMENTO E CONTROLE



FONTE: Serviço de Patologia do HC Curitiba – Dados trabalhados pelo autor

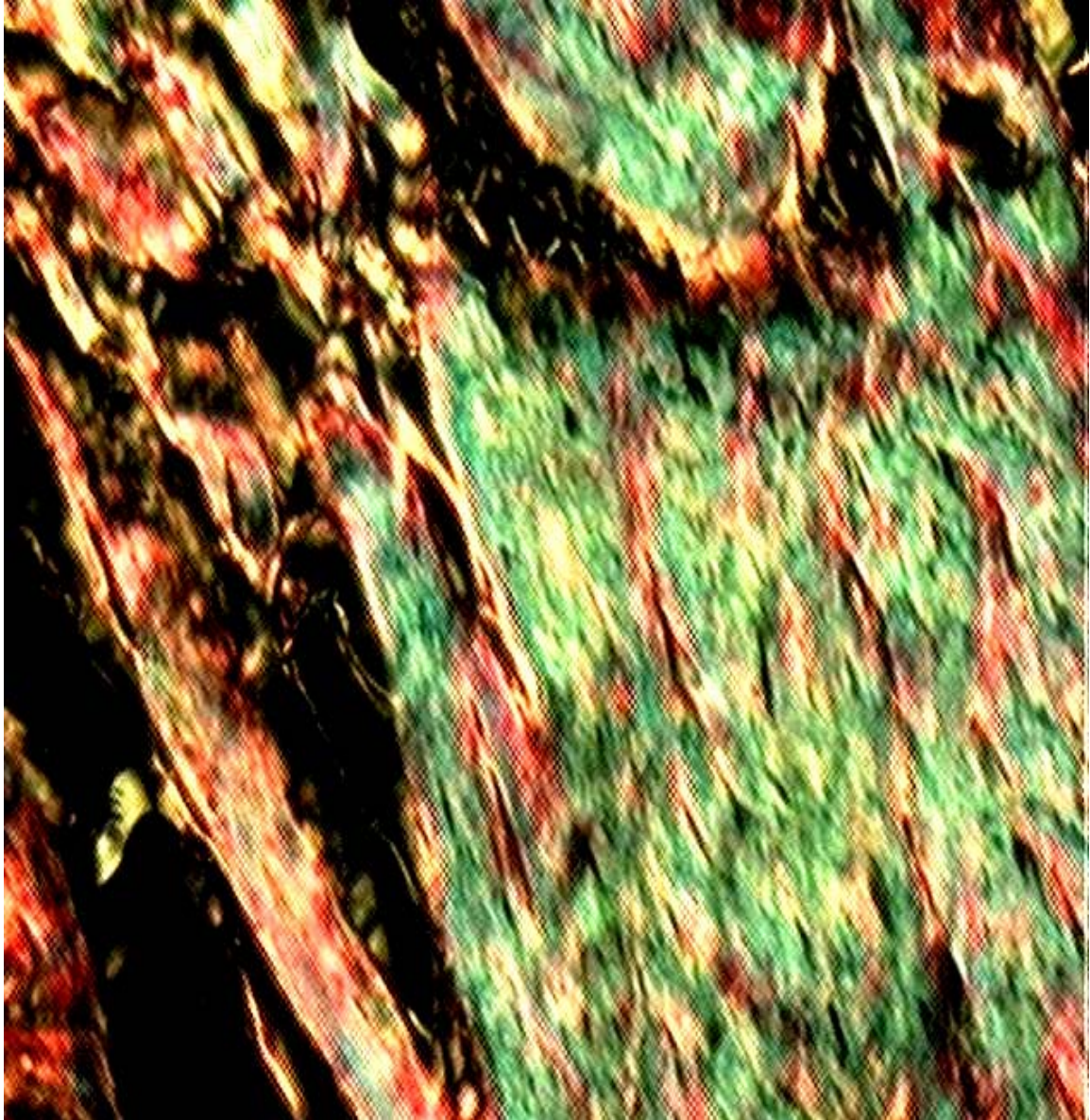
GRÁFICO 7 – AVALIAÇÃO DA DISTRIBUIÇÃO DO COLÁGENO TIPO III NOS GRUPOS EXPERIMENTO E CONTROLE



FONTE: Serviço de Patologia do HC de Curitiba – Dados trabalhados pelo autor

As figuras 15 e 16 evidenciam a presença do colágeno, respectivamente, nos grupos controle e experimento.

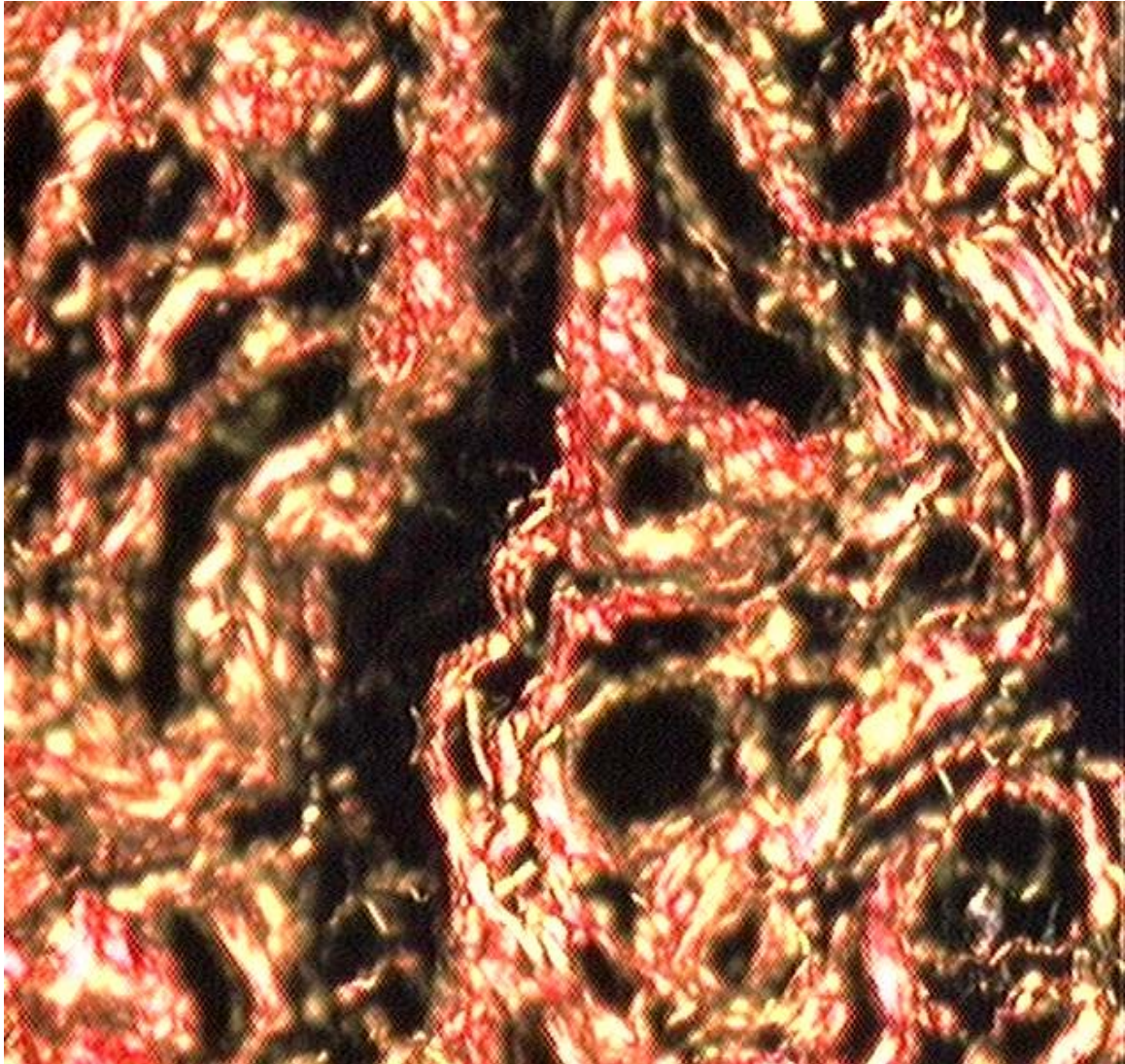
FIGURA 15 – FOTOMICROGRAFIA DE CORTE HISTOLÓGICO DE PAREDE ABDOMINAL CORADO PELO PICROSÍRIUS (AUMENTO DE 20 VEZES) EM RATO DO GRUPO CONTROLE, SUBGRUPO CD. IDENTIFICADO O PREDOMÍNIO DE COLÁGENO TIPO III



FONTE: Serviço de Patologia do HC de Curitiba.

NOTA: animal 9, grupo controle, subgrupo 90 dias (CD), corado pelo picrosírius, apresentando predomínio de colágeno tipo III, fibras coradas em verde. Verificam-se também, pequena quantidade de colágeno tipo I, fibras cor vermelha e fundo preto que são os demais componentes do enxerto.

FIGURA 16 – FOTOMICROGRAFIA DE CORTE HISTOLÓGICO DE PAREDE ABDOMINAL DE RATO CORADO PELO PICROSÍRIUS (AUMENTO DE 20 VEZES), GRUPO EXPERIMENTO, SUBGRUPO EE. IDENTIFICADO PREDOMÍNIO DE COLÁGENO TIPO I



FONTE: Serviço de Patologia do HC de Curitiba.

NOTA: animal 14, grupo experimento, subgrupo 180 dias (EE), corado pelo picrosírius, apresentando predomínio de colágeno tipo I, fibras coradas em vermelho. Verificam-se também, fundo preto que representa os demais componentes do enxerto.

A tabela 16 apresenta a distribuição dos animais quanto a sua classificação no IMaC. Nesta tabela pode-se verificar a inversão do IMaC, primeiramente, no grupo controle, já aos 21 dias de PO e finalmente, no grupo experimento a partir do 180° dia de PO.

TABELA 16 - DISTRIBUIÇÃO DAS FREQUÊNCIAS E PERCENTUAIS DA CLASSIFICAÇÃO DO IMaC NOS GRUPOS E SUBGRUPOS

IMaC	7 dias		14 dias		21 dias		90 dias		180 dias	
	C	E	C	E	C	E	C	E	C	E
<1	9	9	9	10	3	10	10	11	0	1
	90%	90%	90%	100%	30%	100%	100%	73,3%	0%	6,7%
>1	1	1	1	0	7	0	0	4	10	14
	10%	10%	10%	0%	70%	0%	0%	26,7%	100%	93,3%
Total	10	10	10	10	10	10	10	15	10	15

Nota: C= grupo controle, E= grupo experimento

Na tabela 17 destacam-se as inúmeras diferenças, estatisticamente significativas, entre os subgrupos, com exceção, entre os dias 7° e 14° do grupo controle, e 21° e 180° dias, e no grupo experimento entre 14° e 21° dias e entre 14° e 90° dias e 21° e 90° dias.

TABELA 17 - AVALIAÇÃO DO IMaC ENTRE OS SUBGRUPOS

	Subgrupos	Controle	Experimento
	7d x 14d x 21d x 90d x 180d	<0,001	<0,001
Índice de maturação do colágeno(%)	7d x 14d	0,675	<0,001
	7d x 21d	<0,001	<0,001
	7d x 90d	<0,001	<0,001
	7d x 180d	<0,001	<0,001
	14d x 21d	<0,001	0,138
	14d x 90d	<0,001	0,986
	14d x 180d	<0,001	<0,001
	21d x 90d	<0,001	0,108
	21d x 180d	0,020	<0,001
	90d x 180d	<0,001	<0,001

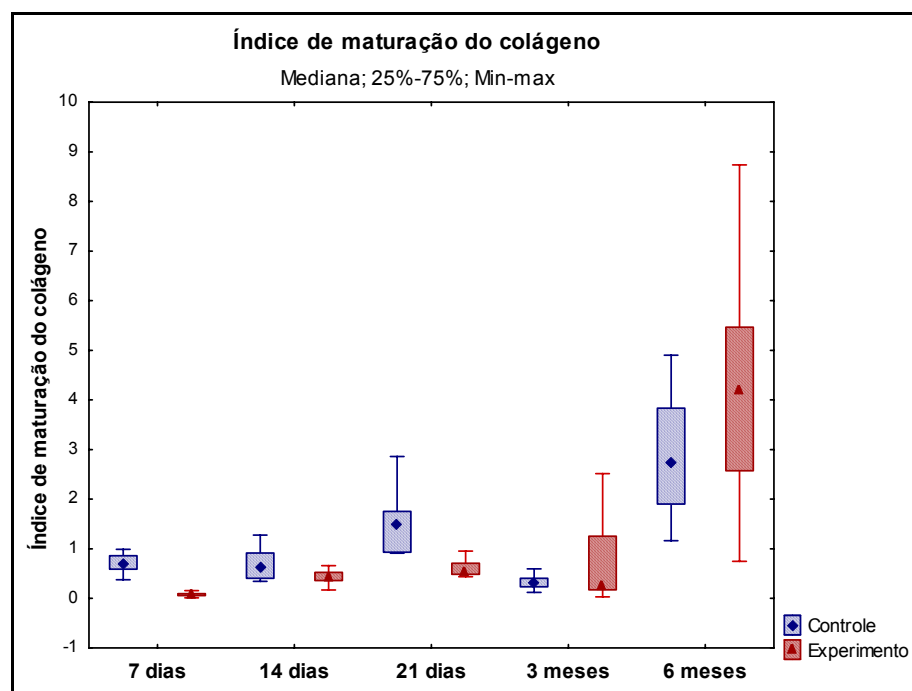
O Índice de Maturação do Colágeno (IMaC) apresentou o valor de p menor que 0,001 entre os grupos controle e experimento, nos subgrupos 7 e 21 dias, tendo IMaC maior no grupo controle (TABELA 18 e GRÁFICO 8).

TABELA 18 - AVALIAÇÃO DO IMAc ENTRE OS GRUPOS

Subgrupo	Grupo	n	Média	Mediana	Mínimo	Máximo	Desvio padrão	Valor de p*
7 dias	Controle	10	0,70	0,69	0,38	0,99	0,19	<0,001
	Experimento	10	0,07	0,07	0,01	0,16	0,04	
14 dias	Controle	10	0,68	0,64	0,34	1,27	0,31	0,123
	Experimento	10	0,43	0,42	0,17	0,66	0,15	
21 dias	Controle	10	1,55	1,50	0,91	2,86	0,61	<0,001
	Experimento	10	0,60	0,51	0,44	0,95	0,17	
90 dias	Controle	10	0,34	0,30	0,12	0,6	0,15	1
	Experimento	15	0,66	0,25	0,03	2,52	0,72	
180 dias	Controle	10	2,85	2,73	1,16	4,90	1,22	0,129
	Experimento	15	4,04	4,19	0,75	8,74	2,10	

* Teste não-paramétrico de Mann-Whitney, $p < 0,05$

GRÁFICO 8 – AVALIAÇÃO DO ÍNDICE DE MATURAÇÃO DO COLÁGENO NOS GRUPOS EXPERIMENTO E CONTROLE



FONTE: Serviço de Patologia do HC de Curitiba – Dados trabalhados pelo autor.

Porém, como esta é uma variável dicotômica se faz necessário o emprego da correção de Bonferroni para testar a hipótese nula em cada momento. A tabela 19 apresenta os valores corrigidos IMAc e verifica-se diferença estatisticamente significativa entre os grupos controle e experimento somente no 21º dia de PO. Ou

seja, quando a probabilidade do IMaC do grupo controle ser igual ao do grupo experimento foi de 0,003.

TABELA 19 - VALORES DO IMaC CORRIGIDOS PELA FÓRMULA DE BONFERRONI .

Subgrupo	Valor de p (controle x experimento)
7 dias	1
14 dias	1
21 dias	0,003
90 dias	0,124
180 dias	1

NOTA: valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significantes.

Na correção da avaliação entre os subgrupos, verificou--se redução das diferenças estatisticamente significativas. Estes dados só ocorreram tanto no grupo controle, como no experimento, na diferença de IMaC entre 7 e 180 dias, 14 e 180 dias e 90 e 180 dias, e 21 e 180 dias (TABELA 20)

TABELA 20 - AVALIAÇÕES DO IMaC NOS BRUPOS E SUBGRUPOS CORRIGIDOS PELA FÓRMULA DE BONFERRONI .

Momentos sob comparação	Valor de p*	
	Grupo experimento	Grupo Controle
7 dias x 14 dias	1	1
7 dias x 21 dias	0,020	1
7 dias x 90 dias	1	0,615
7 dias x 180 dias	<0,001	<0,001
14 dias x 21 dias	0,020	---
14 dias x 90 dias	1	0,124
14 dias x 180 dias	<0,001	<0,001
21 dias x 90 dias	0,286	0,124
21 dias x 180 dias	0,011	<0,001
90 dias x 180 dias	<0,001	<0,001

* Valor de $p < 0,005$ indica significância estatística (correção de Bonferroni).

4.7 AVALIAÇÃO IMUNOHISTOQUÍMICA DOS MARCADORES ACTÍNICOS

4.7.1 Avaliação da presença de tecido muscular

4.7.1.1 HHF-35

Todas as amostras foram positivas para HHF-35, traduzindo assim à presença de tecido muscular no grupo experimento, ou seja, no enxerto, e também no grupo controle.

Verificou-se diferença estatisticamente significativa entre os grupos controle e experimento ($P=0,029$ e $P=0,014$) nos subgrupos 7 dias e 90 dias de PO quanto a maior positividade do marcador HHF35, ou seja, representando maior quantidade de tecido muscular no grupo experimento em relação ao grupo controle (TABELA 21 e GRÁFICO 9).

TABELA 21 - AVALIAÇÃO DO HHF-35 ENTRE OS GRUPOS

Subgrupo	Grupo	n	Média	Mediana	Mínimo	Máximo	Desvio padrão	Valor de p*
7 dias	Controle	10	9456,62	9808,13	4415,11	14475,18	2699,20	0,029
	Experimento	10	11225,07	11382,63	9263,05	12423,64	986,32	
14 dias	Controle	10	4518,67	4150,17	1276,76	8502,45	2364,65	0,796
	Experimento	10	4672,56	4697,69	2590,66	6805,85	1431,34	
21 dias	Controle	10	8460,16	8647,80	2421,32	11367,50	2998,83	0,123
	Experimento	10	6026,39	5173,91	3246,30	10610,85	2884,55	
90 dias	Controle	10	3240,30	2386,60	1040,34	6676,27	2079,06	0,014
	Experimento	15	5327,98	4757,69	2389,33	7439,62	1446,36	
180 dias	Controle	10	4522,31	4738,63	2328,89	6310,45	1412,30	0,091
	Experimento	15	5606,45	5851,81	2449,87	7759,57	1598,19	

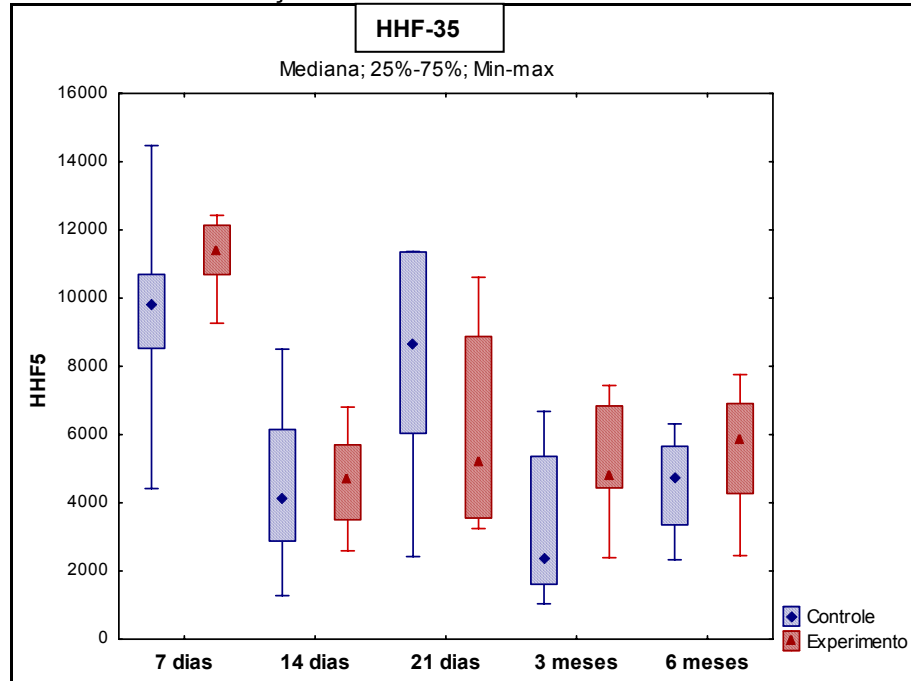
* Teste não-paramétrico de Mann-Whitney, $p<0,05$

Quanto a distribuição HHF-35 nos subgrupos verificou-se dado interessante, maior positividade de HHF-35, ou seja, maior quantidade de marcação para tecido muscular no 7º dia de PO na comparação com os animais avaliados no 14º, 21º e 90º e 180º dia de PO no grupo experimento, dados significativos estatisticamente. (TABELA 22 e FIGURA 17)

TABELA 22 - AVALIAÇÃO DO HHF-35 ENTRE OS SUBGRUPOS

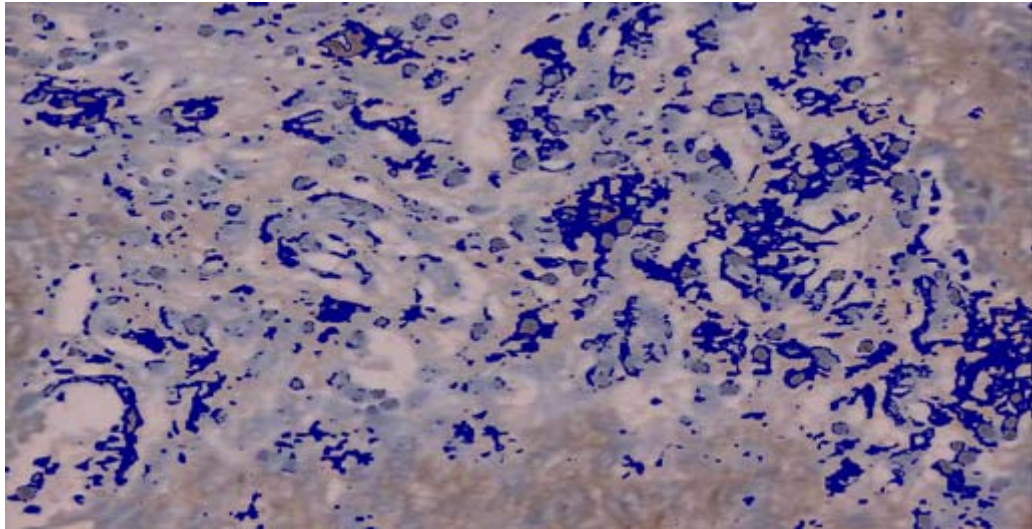
HHF - 35	Subgrupos	Controle	Experimento
	7d x 14d x 21d x 90d x 180d	<0,001	<0,001
	7d x 14d	0,000	<0,001
	7d x 21d	0,500	<0,001
	7d x 90d	<0,001	<0,001
	7d x 180d	<0,001	<0,001
	14d x 21d	0,001	0,255
	14d x 90d	0,224	0,327
	14d x 180d	0,866	0,123
	21d x 90d	<0,001	0,788
	21d x 180d	0,001	0,761
	90d x 180d	0,167	0,522

GRÁFICO 9 – AVALIAÇÃO DO HHF-35 NOS EXPERIMENTO E CONTROLE



FONTE: Serviço de Patologia do HC de Curitiba e da PUC Paraná – Dados trabalhados pelo autor

FIGURA 17 – FOTOMICROGRAFIA DE CORTE HISTOLÓGICO DE PAREDE ABDOMINAL DE RATO CORADO PELO HHF-35 (AUMENTO DE 20 VEZES), GRUPO EXPERIMENTO, SUBGRUPO EB.



FONTE: Serviço de Patologia do HC de Curitiba.

NOTA: animal 4, grupo experimento, subgrupo 14 dias de PO (EB), corado pelo HH-F35, após ser captado pelo programa *Pro Plus* e escolhida cor azul para marcação por *Manual Tag*. Áreas azuis representam tecido muscular na área do enxerto.

4.7.1.2 Actina sarcomérica

A positividade para o marcador Actina Sarcomérica ocorreu em todas as amostras do grupo controle e experimento, constatando, dessa forma a existência de musculatura estriada em todos os enxertos homólogos de diafragma congelados (QUADRO 8 – APÊNDICE).

Na avaliação estatística do anticorpo anti Actina Sarcomérica, o único dado significativo ($P=0,023$), ocorreu na comparação entre os grupos controle e experimento no 7º dia de PO, ou seja, houve maior quantidade de tecido muscular estriado esquelético na região do enxerto homólogo congelado de diafragma do que na linha de sutura da laparotomia simples. (FIGURA 18 e TABELA 23)

TABELA 23 - AVALIAÇÃO DA ACTINA SARCOMÉRICA ENTRE OS GRUPOS

Subgrupo	Grupo	n	Média	Mediana	Mínimo	Máximo	Desvio padrão	Valor de p*
7 dias	Controle	10	3324,65	2855,32	2046,56	6741,43	1384,13	0,023
	Experimento	10	5608,74	5631,44	2507,53	9910,64	2218,72	
14 dias	Controle	10	9706,32	9013,46	6152,85	14675,89	3177,01	0,796
	Experimento	10	9579,73	9857,25	5338,28	13875,54	2960,85	
21 dias	Controle	10	9195,89	8024,33	2858,78	25065,48	6215,91	0,075
	Experimento	10	7046,67	4656,6	2190,96	30961,21	8594,26	
90 dias	Controle	10	4869,04	4541,95	2449,51	8728,79	2183,69	0,071
	Experimento	15	6441,07	6438,74	4067,25	10077,84	2056,27	
180 dias	Controle	10	5705,28	5250,81	2389,08	9055,53	2372,13	0,367
	Experimento	15	6550,79	7081,05	3376,00	9540,31	1984,63	

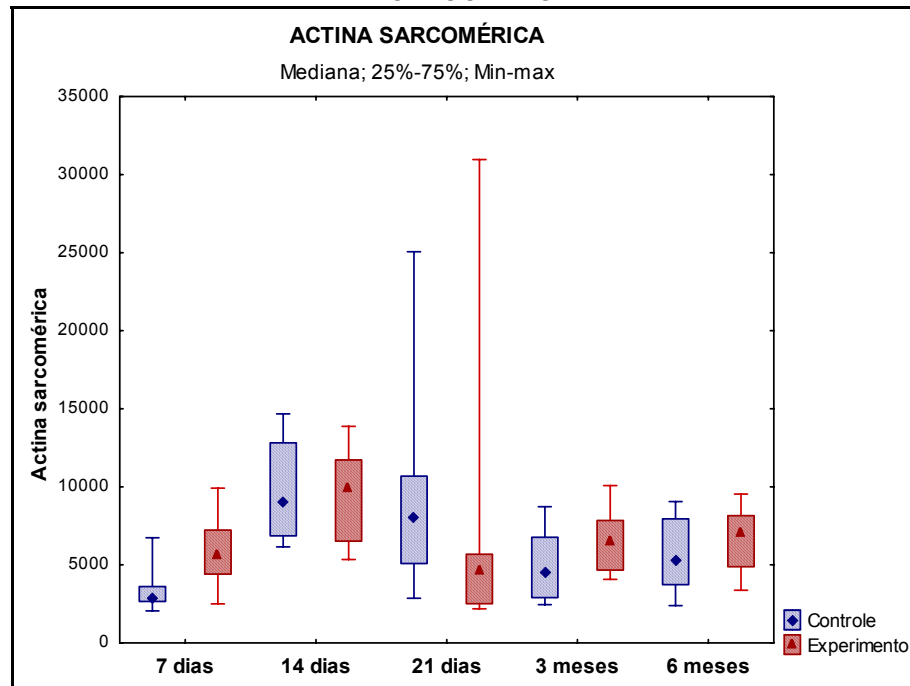
* Teste não-paramétrico de Mann-Whitney, $p < 0,05$

Observando a tabela 24 que ilustra a distribuição da avaliação da Actina Sarcomérica entre os subgrupos, nota-se maior quantidade de tecido muscular esquelético no grupo experiente no 21º dia de PO comparando com o 14º dia. O grupo controle também mostrou resultado estatisticamente significativo, com maior quantidade de tecido estriado no 14º e 21º dias, se comparado com o 7º dia. (GRAFICO 10)

TABELA 24 - AVALIAÇÃO DO ACTINA SARCOMÉRICA ENTRE OS SUBGRUPOS

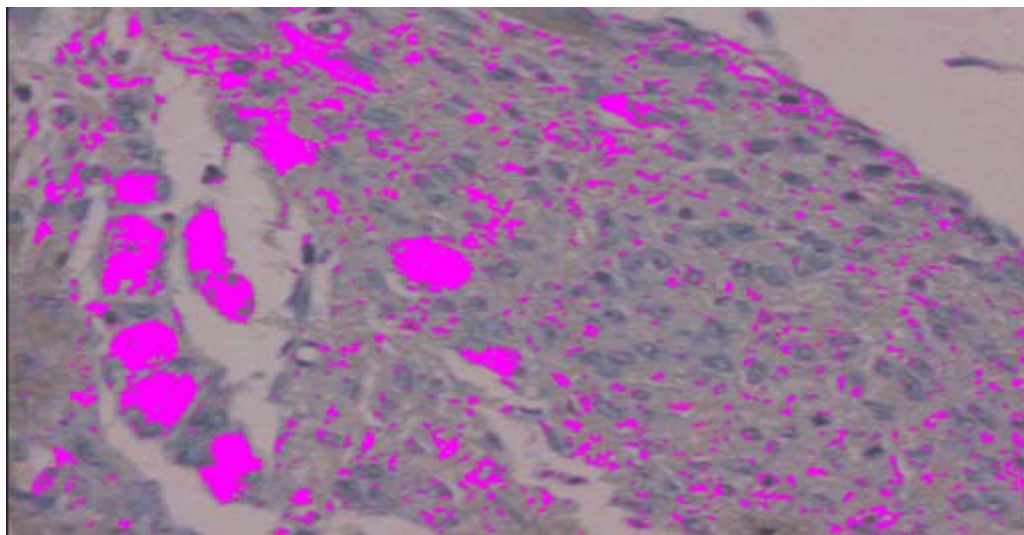
	Subgrupos	Controle	Experimento
	7d x 14d x 21d x 90d x 180d	<0,001	0,010
ACTINA SARCOMÉRICA	7d x 14d	<0,001	0,003
	7d x 21d	<0,001	0,539
	7d x 90d	0,091	0,442
	7d x 180d	0,012	0,336
	14d x 21d	0,307	<0,001
	14d x 90d	0,001	0,011
	14d x 180d	0,007	0,018
	21d x 90d	0,010	0,152
	21d x 180d	0,081	0,105
	90d x 180d	0,376	0,828

GRÁFICO 10 – AVALIAÇÃO DA ACTINA SARCOMÉRICA NOS GRUPOS EXPERIMENTO E CONTROLE



FONTE: Serviço de Patologia do HC de Curitiba e da PUC Paraná – Dados trabalhados pelo autor

FIGURA 18 – FOTOMICROGRAFIA DE CORTE HISTOLÓGICO DE PAREDE ABDOMINAL DE RATO CORADO PELA ACTINA SARCOMÉRICA (AUMENTO DE 20 VEZES).



FONTE: Serviço de Patologia do HC de Curitiba.

NOTA: animal 2, grupo experimento, subgrupo 7 dias de PO (EA), corado pela Actina Sarcomérica, após ser captado pelo programa *Pro Plus* e escolhida cor rosa para marcação por *Manual Tag*. Áreas rosa representam tecido muscular estriado esquelético na área do enxerto.

4.7.1.3 Avaliação do tecido muscular liso/ miofibroblastos

4.7.1.3.1 Calponina

A Calponina foi positiva em todas as amostras (vide APÊNDICE– QUADRO 8) do grupo controle e do experimento. Como o tecido estudo foi o muscular estriado esquelético, sua positividade ocorreu na sua marcação pelos miofibroblastos, conforme evidenciado pela figura 19.

A avaliação dos resultados da Calponina demonstrou diferença, estatisticamente significativa, entre os grupos controle e experimento no 14° e 21° dias de PO, em conformidade com o gráfico 11. Ou seja, houve maior quantidade de miofibroblastos (positividade para Calponina) no grupo controle nessas datas (FIGURA 19 e TABELA 25). As correlações entre os subgrupos não foram estatísticas para 7 e 21 dias no grupo controle, 21 e 90 dias no grupo experimento e 90 e 180 dias tanto no grupo controle como no experimento. (TABELA 26)

TABELA 25 - AVALIAÇÃO DA CALPONINA ENTRE OS GRUPOS

Momento	Grupo	n	Média	Mediana	Mínimo	Máximo	Desvio padrão	Valor de p*
7 dias	Controle	10	10294,07	10077,16	6775,73	14074,94	2436,75	0,481
	Experimento	10	9339,42	9094,00	6751,14	12346,93	1984,05	
14 dias	Controle	10	13997,48	14457,99	8513,39	20513,19	3431,12	<0,001
	Experimento	10	4310,82	3788,78	2344,33	8398,69	1958,55	
21 dias	Controle	10	9724,61	9982,69	1187,44	13271,39	3413,24	0,003
	Experimento	10	6258,41	6201,68	4469,33	8717,11	1479,87	
90 dias	Controle	10	3885,26	3295,67	2346,97	7011,41	1426,80	0,091
	Experimento	15	5533,23	5677,79	100,00	10929,32	2857,69	
180 dias	Controle	10	5125,58	4745,30	2559,71	9389,05	2048,75	0,103
	Experimento	15	6304,91	5962,02	770,91	11615,52	2460,46	

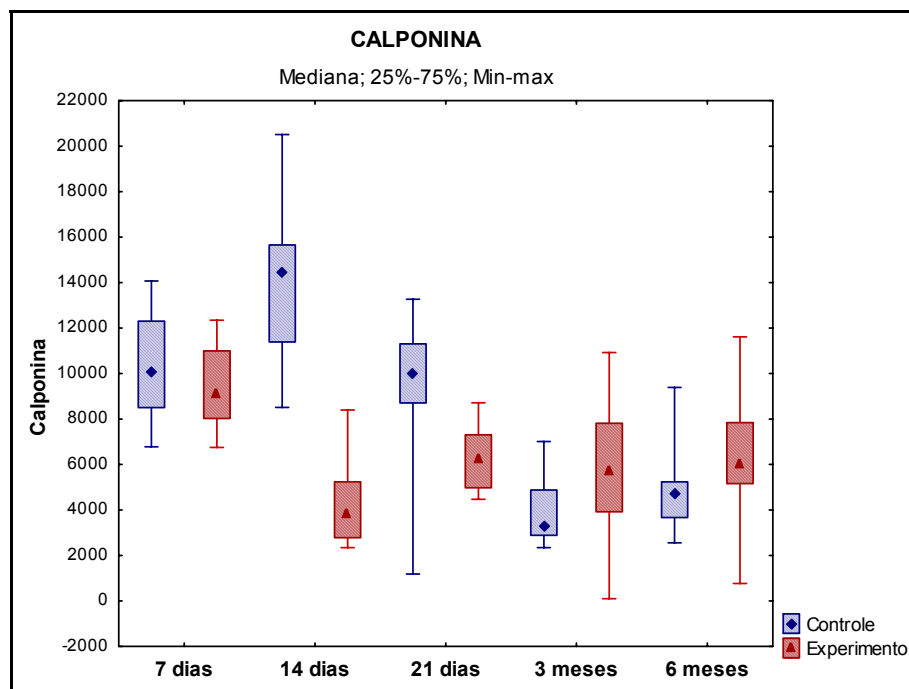
* Teste não-paramétrico de Mann-Whitney, $p < 0,05$

Quando avalia-se a Calponina, nos subgrupos quanto à diferença estatística, verifica-se a presença de tal critério, no grupo controle e experimento, em inúmeros casos, exceto, entre 7 e 21 dias no grupo controle, entre 21 e 90 dias, e entre 21 e 180 dias no grupo experimento, e entre 90 e 180 dias em ambos os grupos. Ou seja não houve maior quantidade de miofibroblastos na comparação entre as fases da cicatrização destes animais (TABELA 26 e GRÁFICO 11).

TABELA 26 - AVALIAÇÃO DA CALPONINA ENTRE OS SUBGRUPOS

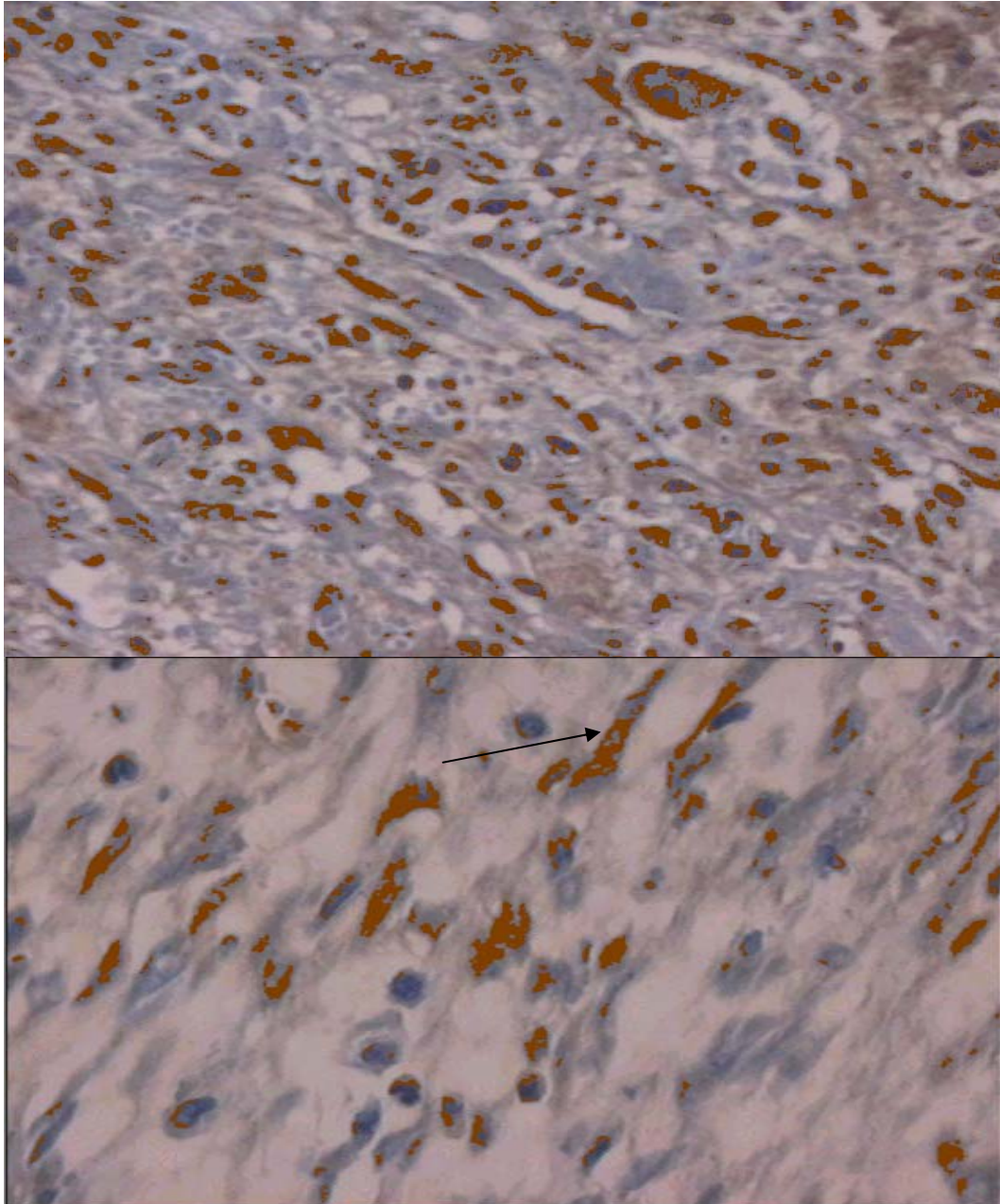
	Subgrupos	Controle	Experimento
	7d x 14d x 21d x 90d x 180d	<0,001	<0,001
CALPONINA	7d x 14d	0,010	0,001
	7d x 21d	0,759	0,005
	7d x 90d	0,001	0,001
	7d x 180d	0,001	0,003
	14d x 21d	0,004	0,036
	14d x 90d	0,001	0,036
	14d x 180d	0,001	0,017
	21d x 90d	0,001	0,844
	21d x 180d	0,001	0,913
	90d x 180d	0,223	0,733

GRÁFICO 11 – AVALIAÇÃO DA CALPONINA NOS GRUPOS EXPERIMENTO E CONTROLE



FONTE: Serviço de Patologia do HC de Curitiba e da PUC Paraná – Dados trabalhados pelo autor

FIGURA 19 – FOTOMICROGRAFIA DE CORTE HISTOLÓGICO DE PAREDE ABDOMINAL DE RATO CORADO PELA CALPONINA (AUMENTO DE 20 VEZES) E DETALHE EM AUMENTO DE 40X DA ÁREA CORADA (POSITIVIDADE PARA MIOFIBROBLASTO).



FONTE: Serviço de Patologia do HC de Curitiba.

NOTA: animal 9, grupo controle, subgrupo 14 dias de PO (CB), corado pela Calponina, após ser captada pelo programa *Pro Plus* e escolhida cor marrom para marcação por *Manual Tag*. Áreas marrom vivo representam miofibroblastos (seta) na área da parede abdominal (linha de sutura) conforme o detalhe em aumento 40X.

4.8 CORRELAÇÃO ENTRE AS VARIÁVEIS

Na avaliação da existência de correlação entre as variáveis quantitativas foi empregado o teste de Fisher, que considerou os resultados de $p < 0,05$ como estatisticamente significativos, bem como, o coeficiente de correlação de *Spearman*. A interpretação do sinal da correlação é determinante na avaliação dos resultados, pois um coeficiente de correlação positivo indica uma relação direta entre as variáveis, ou seja, valores altos de uma variável estão associados a valores altos da outra variável. Por outro lado, se o coeficiente de correlação é negativo, isso indica uma correlação inversa entre as variáveis, ou seja, valores altos de uma variável estão associados a valores baixos da outra variável. Baseados nesses testes encontram-se nos APÊNDICES (QUADRO 9) a correlação entre todas as variáveis e os resultados de P e do Coeficiente de *Spearman*. A seguir os dados com correlação estatística e sua interpretação baseada na tabela 27.

Analisando a variável Polimorfonucleares houve correlação inversamente proporcional com o Colágeno tipo I e Índice de Maturação do Colágeno, ambos no grupo controle 7 dias, e com os Monomorfonucleares no grupo experimento 7 dias e no grupo controle 14 dias. Já a correlação nos grupos controle 21 dias e experimento 90 dias apresentou-se diretamente proporcional, ou seja, quanto maior a quantidade de PNM, maior a quantidade de MNM nesses grupos.

A quantidade de Monomorfomucleares além da correlação já comentada com PMN, também apresentou com o Colágeno tipo I, IMaC, Tensão, Força de Ruptura e Força máxima, todos com coeficiente negativo. A única correlação positiva e significativa estatisticamente mostrou ser no grupo controle nos 14 e 21 dias. Nesses animais verificou-se que quanto maior a quantidade de MMN maior a quantidade de colágeno tipo III.

As variáveis da morfometria do colágeno apresentaram correlação entre si e com Força Máxima, Tensão e Actina Sarcomérica. Porém, a força máxima e a tensão apresentaram coeficientes positivos o que corresponde a uma maior quantidade de colágeno do tipo I e maior IMaC quanto maior a tensitometria. Ressalta-se que todas as correlações só ocorreram no grupo controle, variando entre 14 até 180 dias de PO.

A força máxima demonstrou ter algumas correlações positivas e outras negativas, conforme tabela 27. Entretanto, a força máxima além de apresentar correlação diretamente proporcional com a Tensão ela foi presente em todos os subgrupos do grupo experimento. As outras variáveis de tensão também demonstraram correlações com MMN, colágeno tipo I e III, IMAc.

Outros dados que mostraram diferenciações foram quanto a Actina Sarcomérica e sua correlação inversa com a Força de Ruptura (negativa), ou seja, quanto maior a quantidade de tecido muscular estriado esquelético menor a força de ruptura, fato ocorrido no grupo controle aos 21 dias de PO. O HHF-35 também mostrou correlação estatística, mais esta foi diretamente proporcional a força de ruptura somente no grupo controle aos 180° dias de PO.

A Calponina e o HHF-35 apresentaram indireta correlação com a Tensão, ou seja, quanto maior a tensão menor a quantidade de miofibroblastos e tecido muscular estriado esquelético, nos grupos experimento aos 7 dias de PO e controle aos 90 dias de PO, respectivamente.

A quantidade de tecido muscular total se correlacionou com a quantidade de tecido estriado esquelético, ou seja, a positividade do HHF-35 foi maior quanto maior a quantidade de Actina Sarcomérica no grupo controle no 90° dias de PO.

TABELA 27- CORRELAÇÃO ENTRE AS VARIÁVEIS NOS GRUPOS E SUBGRUPOS

n	Grupo/ Subgrupo	Variáveis	Coefficiente de Spearman	Valor de P
10	CA	Actina sarcomérica x Força de ruptura	-0,71	0,021
		Colágeno I x PNM	-0,66	0,038
		ÍMaC x PMN	-0,66	0,038
		Tensão x Força de ruptura	0,64	0,046
10	EA	Calponina x Força máxima	-0,64	0,045
		Calponina x Tensão	-0,80	0,005
		Força máxima x Tensão	0,74	0,015
		PMN x MMN	-0,81	0,004
10	CB	Colágeno III x MMN	0,87	0,001
		Colágeno I x MMN	-0,87	0,001
		ÍMaC x MMN	-0,87	0,001
		Força máxima x Tensão	0,98	<0,001
		Força máxima x Força de ruptura	0,78	0,008
		Tensão x Força de ruptura	0,71	0,022
		PMN x MMN	-0,65	0,042
10	EB	Força máxima x Tensão	0,87	0,001
		Força de ruptura x MMN	-0,86	0,002
10	CC	Colágeno III x Força máxima	-0,67	0,034
		Colágeno III x Tensão	-0,76	0,011
		Colágeno III x MMN	0,84	0,002
		Colágeno I x Força máxima	0,67	0,034
		Colágeno I x Tensão	0,76	0,011
		Colágeno I x MMN	-0,84	0,002
		ÍMaC x Força máxima	0,67	0,034
		ÍMaC x Tensão	0,76	0,011

		ÍMaC x MMN	-0,84	0,002
		Força máxima x Tensão	0,97	<0,001
		Força máxima x MMN	-0,71	0,022
		Tensão x MMN	-0,77	0,009
		PMN x MMN	0,64	0,044
10	EC	Força máxima x Tensão	0,98	<0,001
10	CD	Actina sarcomérica x HHF35	0,78	0,008
		Actina sarcomérica x Colágeno III	0,79	0,006
		Actina sarcomérica x Colágeno I	-0,79	0,006
		Actina sarcomérica x ÍMaC	-0,79	0,006
		HHF35 x Tensão	-0,81	0,005
		Força máxima x Tensão	0,84	0,002
15	ED	Força máxima x Tensão	1,00	<0,001
		Força máxima x Força de ruptura	0,58	0,023
		Tensão x Força de ruptura	0,56	0,029
		PMN x MMN	0,62	0,014
10	CE	HHF35 x Força de ruptura	0,65	0,043
		Colágeno III x Colágeno I	-0,99	<0,001
		Colágeno III x ÍMaC	-0,66	0,038
		Colágeno I x ÍMaC	0,65	0,043
		Força máxima x Força de ruptura	0,95	<0,001
		Tensão x Força de ruptura	0,95	<0,001
15	EE	Força máxima x Tensão	0,72	0,003
		Força máxima x Força de ruptura	0,56	0,028

5 DISCUSSÃO

Algumas considerações devem ser feitas previamente à discussão dos resultados.

5.1 A AMOSTRA

Foram usados pela autora ratos da linhagem *Wistar* pelo seu baixo custo, ciclo de vida curto, fácil manuseio e facilidade de uniformização da amostra. Estas informações são corroboradas pelos trabalhos de Ngueyn, Lim e Dresner (1998), Klinge *et al.* (1999), Gupta, Jain e Raghubir (1999), Aguilar-Nascimento *et al.* (2000), Kuhn *et al.* (2001), Oishi *et al.* (2002), Tsai *et al.* (2003), Soiderer *et al.* (2004), Vindigni *et al.* (2004) e Riet *et al.* (2004).

5.2 O BANCO DE TECIDOS

Recentemente, houve o reconhecimento de que o uso do enxerto de tecido musculoesquelético é uma forma de transplante, com seu conseqüente enquadramento em normas governamentais (WOMACK; GRAY, 2000). Com isso, observou-se o aumento da demanda, não apenas na área ortopédica (LAWHORN; HOWELL, 2003), mas também, em outras especialidades, tais como neurocirurgia (OKLUND *et al.*, 1986), cirurgia plástica (DISA; KLEIN; GOLDBERG, 1998), odontologia (KOHLES *et al.*, 2000), cirurgia pediátrica (CANTY *et al.*, 1998) e cirurgia torácica (TOJO *et al.*, 1998; KAGEYAMA *et al.*, 1999; KLEPETKO *et al.*, 2004). Daí a necessidade de amplas investigações e de maior aplicabilidade nas diversas áreas da medicina e da experimentação cirúrgica.

Importante ressaltar que nos tecidos humanos, rigorosos critérios de exclusão são utilizados na seleção dos doadores baseados na história clínica pregressa, exame físico e diagnóstico clínico do doador, sorologia completa e culturas para germes aeróbios e anaeróbios e fungos (PARDINI; ALENCAR, 2001). O Banco de Tecidos do HC de Curitiba, local onde foram armazenados os enxertos de diafragma utilizados nesta dissertação, segue rigorosamente estes princípios e todos foram

respeitados para a confecção do trabalho e segurança dos dados e dos outros materiais armazenados no banco.

O procedimento de retirada do tecido musculoesquelético deve ter duração de até 12 horas em temperatura ambiente (19-25°C), a qual varia de acordo com o local e época do ano (WOMACK; GRAY, 2000). Estes fatores foram rigorosamente controlados pela autora, sendo que não houve período entre coleta do material e seu processamento superior a seis horas, e este foi conservado durante todo o trajeto em sacolas térmicas para não haver degradação do produto.

Outras conservações foram já propostas na literatura, como, por exemplo, o trabalho de Mazzanti *et al.* que conservaram o enxertos de diafragma em solução supersaturada de 300%. Esse meio de conservação permite um período de no máximo 30 dias o que inviabiliza um banco de tecidos para quando houver a necessidade, já que o emprego desses materiais não é de uso diário e sua disponibilidade é escassa.

Outra grande vantagem dos enxertos homólogos congelados é que estes constituem excelentes opções de enxerto porque a baixa temperatura permite uma diminuição da resposta imune (reação enxerto-hospedeiro), proporcionando melhor incorporação do enxerto e manutenção das propriedades biomecânicas como verificado nos trabalhos de Liu (1975), Smith, Young e Kearney (1996) e Jackson, Corsetti e Simon (1996). Strickland, Macgillivray e Warren (2003) corroboraram estes achados e ainda ressaltaram a menor morbidade, fraqueza muscular e relaxamento das fibras musculares nos enxertos homólogos comparados aos autólogos.

Maeda *et al.* (1997) estudaram os fenômenos sofridos pelos enxertos tendinosos homólogos congelados, autógenos congelados e autógenos à fresco em ratos. Relataram ausência de infecção e integridade dos enxertos em todos os animais. Quanto às forças de tensão, aos quatro meses de pós-operatório (PO), verificaram valores menores nos enxertos homólogos congelados do que nos autólogos congelados, sendo que os autólogos a fresco apresentaram valores iguais a este último. Após 12 semanas de PO as forças de tensão foram equivalentes nos enxertos homólogos ou autólogos congelados ou autólogos a fresco. Com 24 semanas de PO não havia diferença significativa em relação à força tênsil entre os diferentes tipos de enxertos.

O risco de infecção dos enxertos sempre foi uma preocupação marcante. Tomford *et al.* (1990) apresentaram valores de 5% nas taxas de infecção de

enxertos homólogos congelados. Mae *et al.* (2003) estudaram a utilização da radiação gama no processo de esterilização dos enxertos homólogos de tendão implantados em 142 ratos. A taxa de infecção foi nula, porém, houve redução na força tênsil em até 50% em comparação aos enxertos homólogos congelados não irradiados. Cameron *et al.* (1971), Webster e Werner (1983) e Drez *et al.* (1991) estudaram as propriedades biomecânicas dos enxertos homólogos tendinosos e observaram redução importante nas reações imunogênicas e redução das propriedades biomecânicas até o trigésimo dia de pós-operatório, sendo que a partir desta data os valores dos enxertos homólogos congelados e dos auto-enxertos foram semelhantes.

Bettin *et al.* (2003) avaliaram 20 ovelhas submetidas à transplante com enxerto homólogo congelado à seco ou liofilizado de tendão patelar, verificando ausência de infecção, porém, as alterações nas propriedades mecânicas não foram estatisticamente significativas quando comparadas ao grupo controle (auto-enxerto). Contudo, a grande maioria dos artigos é unânime em afirmar a superioridade dos enxertos homólogos congelados no que tange a fácil conservação e manipulação, bem como pela capacidade de manter as características primárias das forças tênsil e de ruptura, bem como o remodelamento do colágeno (SHINO; HORIBE, 1991; FLAHIFF, 1995; MAEDA *et al.*, 1997; TORITSUKA *et al.*, 1997; JOHNSON, 2004). Estas razões influenciaram a escolha do enxerto homólogo congelado para a confecção do presente estudo.

O tecido musculoesquelético mais utilizado atualmente, em humanos, é a fáscia lata pelo fato de ser totalmente tendinoso (TOMFORD, 1990; WILLIAMS *et al.*, 1998). Contudo, em animais o melhor tecido depende de características próprias: o rato, por exemplo, tem uma fáscia lata muito exígua, sendo o diafragma, pela grande quantidade de tendão presente, ótima opção (LEVINE; SALTZMAN, 1995). Entretanto, o emprego do diafragma como enxerto homólogo tem sido pouco utilizado tanto em pesquisas experimentais como na prática clínica. Esse fato influenciou de maneira decisiva na escolha do diafragma como enxerto homólogo congelado neste estudo.

5.3 A ANESTESIA

A anestesia inalatória com éter sulfúrico, utilizada nesta investigação, é prática, eficiente, de baixo custo e dispensa o cálculo da dose por quilograma de peso. Esses dados são corroborados por Salmela (1981), Dostal e Gamelli (1990), Gupta, Jain e Raghubir (1999), Aguilar-Nascimento *et al.* (2000) e Tenius (2003). Existe, porém, a desvantagem de aprofundamento da anestesia com conseqüente morte do animal, o que alicerçou a prática do uso de outros agentes anestésicos, tais como a ketamina (KLINGE *et al.*, 1999; GAMBA *et al.*, 2002; VINDIGNI *et al.*, 2004) isofluorano (CLARKE *et al.*, 1996; BADYLAK *et al.*, 2002; HOWDIESHELL *et al.*, 2003; RIET *et al.*, 2004), tionembutal (KUHN *et al.*, 2001) ou associação de ketamina e isofluorano (SOIDERER *et al.*, 2004). Devido a isso, neste estudo a anestesia utilizada envolveu os dois métodos e mostrou-se eficaz, além de não apresentar complicações.

5.4 OS PERÍODOS DE AVALIAÇÃO DOS RESULTADOS

A autora mensurou a amostra em 7, 14, 21, 90 e 180 dias, desta forma, o objetivo foi avaliar o colágeno nas fases precoces e tardias da cicatrização. Klinge, Schumpelick e Klosterhalfen (2001) avaliaram ratos submetidos à reconstrução da parede abdominal com tela de poliglactina 910 e poliglactide com intervalos de três, sete, 14, 21, 45, 90, 135 e 180 dias. Estes autores observaram que os dois materiais apresentavam resultados semelhantes até os três meses de pós-operatório, contudo, a partir deste período a tela de material sintético absorvível (poliglactina 910) apresentou redução em 50% na força tênsil, evoluindo com formação de herniações incisionais tardias. No presente estudo, não foi verificado resultado semelhante, mas sim, melhora nos valores tensiométricos, da morfometria do colágeno e, no que tange a imunomarcação do HHF35, actina sarcomérica e calponina nas fases da cicatrização.

5.5 ESCOLHA DO GRUPO CONTROLE

A escolha do grupo controle seguiu o estudo de Klinge, Schumpelick e Klosterhalfen (2001) no qual utilizou, na comparação de diferentes telas para o

reparo de defeitos da parede abdominal, um controle de ratos somente submetidos ao estresse cirúrgico e laparotomia com fechamento primário. Desta forma, as telas seriam comparadas ao material considerado “padrão-ouro”, a própria parede abdominal. No presente estudo comparou-se o enxerto homólogo congelado de diafragma com a própria parede abdominal.

5.6 AVALIAÇÃO DA CICATRIZAÇÃO

Neste estudo a avaliação microscópica com H/E quantificou a presença de células inflamatórias tipo monomorfonucleares e polimorfonucleares, desta maneira, pode-se qualificar a fase inflamatória como aguda, agudo/crônica e crônica de acordo com o predomínio destas células. Lemos (2002) utilizaram esta avaliação histopatológica na cicatrização de ratos desnutridos com excelente correlação entre as fases de cicatrização.

Na mesma linha, Tenius (2003) através da quantificação destas células, pode analisar a intensidade da reação inflamatória em ratos com uso crônico de dexametasona, obtendo correlação direta com as fases da cicatrização.

Outra forma de avaliação foi empregada por Bettles (2003) e Balderrama (2008). Esses autores utilizaram avaliação qualitativa para discriminar se as reações foram agudas ou crônicas a partir do predomínio celular. Entretanto, desde os estudos de Holm-Pedersen e Viidik (1972), o método qualitativo vem sendo contestado por depender de uma avaliação pessoal do patologista e não exprimir valores objetivos que possam ser mensuráveis como ocorre no método quantitativo. O presente estudo empregou o método quantitativo para avaliação do processo inflamatório analisando a quantidade de células polimorfonucleares e monomorfonucleares presentes em cada grupo.

A escolha do método para quantificação do colágeno baseou-se nos estudos de Junqueira, Bignolas e Brentani (1979) que desenvolveram o método de análise da densidade do colágeno pela coloração de picrosírius. Este método popularizou-se devido a sua precisão na avaliação do colágeno, mas principalmente, na diferenciação dos tipos de colágeno na cicatrização das mais diversas variedades de tecidos (TRUBIAN, 2008; RIBAS, 2006; LOUREIRO *et al.*, 2003; DAYAN *et al.*, 1989).

Camargo (2007) utilizou anticorpos policlonais feitos em coelhos anti-colágeno tipo I e anti-colágeno tipo III para avaliação morfométrica do colágeno da prega vocal de suínos após exérese, com laser de CO₂. O estudo mostrou ótimo resultado destes marcadores na detecção do colágeno, porém, o autor ressaltou o alto custo do método, técnica laboriosa e técnico-dependente.

O corante picrosírius, por sua vez, é mais seletivo e de fácil execução e interpretação, sendo específico para o colágeno tecidual (BIONDO-SIMÕES *et al.*, 2000 e 2005). Tais propriedades conferem ao picrosírius características de excelência para a diferenciação histológica do colágeno (TOGNINI *et al.*, 1998; TOGNINI *et al.*, 2000; GRECA *et al.*, 2004), sendo por isso, empregado nesta tese.

5.7 TISSUE MICROARRAY ARTESANAL (TMA)

O método artesanal utilizado neste estudo baseou-se na metodologia sugerida e patenteada (protocolo de patente nº 1043) a partir da dissertação de mestrado de Azevedo (2006) e utilizada desde então como protocolo nos Serviços de Patologia da Pontifícia Universidade Católica e Universidade federal do Paraná. Este método mostrou ser eficiente através da utilização de diferentes áreas e distintos níveis de corte, possibilitando a repetição dos experimentos, bem como o estudo de grande número de amostras simultaneamente, com grande economia de tempo e custos, e permitindo a uniformização das reações. Tais observações são corroboradas pelos trabalhos de Jensen, 2001; Jensen, 2003; Pires *et al.*, 2005; Kumar *et al.*, 2004; Sapino *et al.*, 2006; Andrade *et al.*, 2007.

5.8 AVALIAÇÃO DOS MIOFIBROBLASTOS

Nos últimos 20 anos, os estudos vêm demonstrando que a modulação de fibroblastos para fenótipos de miofibroblastos, com a aquisição de características contrácteis especializadas, é essencial para a formação do tecido conjuntivo de remodelação durante o fechamento de feridas normais e patológicas (SKALLI *et al.*, 1986 e 1989; MASUR *et al.*, 1996; BERNACCHIO, 2007) . Os miofibroblastos tornaram-se células chave para o tecido conjuntivo, pois promovem o remodelamento das feridas e promovem o desenvolvimento da fibrose (FOLLONIER *et al.*, 2008; LEASK *et al.*, 2008). Baseado nisso, vários estudos têm empregado a

identificação dos miofibroblastos para avaliar o processo de cicatrização dos tecidos (FONSECA, 2008; CAMARGO, 2007).

Skalli *et al.* (1986) utilizou pela primeira vez o anticorpo anti- α -actina muscular lisa (actina α -sm) para quantificação dos miofibroblastos por imunohistoquímica. Hinz *et al.* (2001), e posteriormente, Lorena *et al.* (2002) relataram correlação direta entre o nível de actina α -SM e a capacidade contrátil dos miofibroblastos, sendo a expressão da mesma considerada por muitos autores (ALVES, 2006; TRUBIAN, 2008), como principal marcador bioquímico deste tipo celular.

Desde que Takahashi *et al.* (1986) apresentaram a calponina, ela tem sido largamente estudada revelando-se a proteína reguladora das células musculares lisas e não musculares. Esta ação se deve, segundo Wu e Jin (2008), devido a inibição da miosina ATPase, ativada pela actina e estimulada pela calponina.

Matthew *et al.* (2000) demonstraram que a Calponina 1 é específica para células musculares lisas e serve como marcador da diferenciação destas células. Tang *et al.* (2006) analisaram a calponina 2 e ressaltaram a sua função na organização do citoesqueleto. Estes autores ainda observaram que sua concentração estava relacionada com a angiogênese e fibrinogênese. No trabalho de Hossain *et al.* (2005) a ação da calponina no citoesqueleto foi reforçada, pois atua na migração celular e na contração dos filamentos actínicos. Estes autores também verificaram que são os fibroblastos que expressam quantidades consideráveis de calponina h2. Hossain e Jin (2009) demonstraram que a força na expressão da Calponina h2 relacionava-se ao aumento na resistência dos filamentos actínicos. A calponina regula a proliferação celular e a migração dos fibroblastos na cicatrização das feridas, bem como controla o mecanismo de tensão e contração tecidual. Por fim, a presença da calponina regula a presença e a degradação dos fibroblastos e miofibroblastos (ENIS *et al.*, 2005).

Mesmo com todas essas características, poucos trabalhos têm utilizado a calponina como marcador para miofibroblasto e na avaliação da cicatrização de tecidos. Nos casos onde o local a ser examinado tem como fundo um tecido muscular liso, como o cólon ou intestino delgado, a avaliação da cicatrização das anastomoses apresentaria alguma dificuldade na diferenciação da base com as células cicatriciais. Porém, na avaliação da parede abdominal, como o presente estudo, a calponina mostra-se excelente opção para o estudo de miofibroblastos, já que toda a marcação reflete miofibroblastos e tecido de neovascularização. Afinal, a

base estudada é o tecido muscular estriado esquelético que não se cora pela calponina.

5.9 DELINEAMENTO DO ESTUDO

Baseando-se nos eixos de delineamento desta pesquisa, a montagem foi condicionada pelo desfecho. O eixo desfecho foi dinâmico. O eixo experimentação foi observacional. O eixo comparação foi do tipo comparado. O eixo unidade de pesquisa foi individual e o eixo temporalidade foi contemporâneo. Esses eixos de delineamento classificaram a pesquisa realizada como estudo experimental controlado, onde o fator em estudo foram os “enxertos de parede abdominal” e os desfechos foram a “integridade do enxerto”, “medidas tensiométricas”, “histopatologia”, “colágeno”, “HHF35”, “actina sarcomérica” e “calponina” (FLETCHER; FLETCHER; WAGNER, 1989; JEKEL; ELMORE; KATZ, 1999; MOTTA; WAGNER, 2003).

5.10 A RESPEITO DOS RESULTADOS

5.10.1 Complicações cirúrgicas

As complicações cirúrgicas avaliadas diariamente foram à presença de herniação, deiscência, evisceração e infecção da ferida operatória. Não houve casos de complicações cirúrgicas, o que é corroborado pelos estudos de Clarke *et al.* (1996) e Soiderer *et al.* (2004)

Ao contrário dos resultados desta tese, Klinge *et al.* (1999), testando quatro diferentes tipos de telas na correção de defeitos da parede abdominal em 225 ratos, verificaram diferentes índices de complicações de acordo com o tipo de tela usada. No grupo no qual foi inserida a tela com quantidade diminuída de polipropileno, dois casos desenvolveram seroma; dois, hematoma; três, inflamação local; cinco, herniações, e quatro foram à óbito. Nos casos em que a tela foi de poliglactina (absorvível), seis animais evidenciaram seroma; seis, hematoma; oito, inflamação local; dez, herniações e quatro morreram. Na tela em que foram adicionados filamentos de poliglactina, dois animais tiveram como complicação seroma; três, hematoma; 16, inflamação local; um, herniações, e três foram à óbito. Finalmente, as complicações nos casos em que houve a associação dos componentes usados nas

telas dos dois últimos grupos foram três seromas, três hematomas, nove inflamações no local, nove herniações e 13 óbitos.

Discordando também dos resultados encontrados pela autora, Riet *et al.* (2004), avaliando diariamente durante sete e 30 dias dois grupos de 28 ratos cada, sacrificaram dois animais no quinto dia pós-operatório que estavam com deiscência da ferida operatória, sendo a causa desta complicação foi, respectivamente, retenção urinária e sutura inadvertida do cólon. Além disso, a taxa de infecção foi significativamente maior no grupo que usou a tela de polipropileno com colágeno em relação ao grupo que usou tela de polipropileno somente.

5.10.2 Integridade do enxerto

Williams *et al.* (1998), em um estudo clínico, utilizaram enxerto autólogo de fáscia lata para reconstrução de parede abdominal em 12 pacientes com 42% de perda total do enxerto. Disa, Klein e Goldberg (1996) apresentaram resultados controversos com a utilização do enxerto autólogo de fáscia lata para reconstrução de parede abdominal em coelhos. Dos 35 animais submetidos ao procedimento cirúrgico, nenhum apresentou alterações na integridade do enxerto. Levine e Saltzman (1995) introduziram enxertos homólogos congelados à seco de diafragma na bolsa omental de 30 ratos. Os enxertos diafragmáticos mantiveram-se intactos em 83,6% dos casos. No presente estudo 100% dos enxertos homólogos diafragmáticos congelados encontravam-se íntegros.

5.10.3 Aderências

Soiderer *et al.* (2004) mensuraram, em estudo que avaliou três tipos de material de enxerto para reparo da parede abdominal em ratos, as aderências entre o conteúdo intra-abdominal e a face interna do enxerto, graduando-as de 0 a 4, conforme aparecem neste estudo. As aderências foram menores nos enxertos de submucosa de intestino delgado em relação à tela de polipropileno de maneira significativamente estatística. O presente estudo não observou diferenças estatisticamente significativas no fator aderência entre os grupos ou subgrupos.

5.10.4 Medidas tensiométricas

Inicialmente, deve-se ressaltar que é a organização espacial do colágeno, e não sua quantidade, que proporciona resistência a ferida (GOGIA, 2003).

Klinge *et al.* (1999) mediu a força de tensão suportada por quatro diferentes tipos de telas usadas para correção de defeitos da parede abdominal. Os grupos que evidenciaram maior força tênsil, de forma estatisticamente significativa, foram os grupos de tela de polipropileno coberto com poliglactina no sétimo e nonagésimo dia de mensuração, polipropileno associado com poliglactina multifilamentar no terceiro e sétimo dias e a tela que usou a combinação do material de ambas as anteriores no sétimo e nonagésimo dias. Fato semelhante foi encontrado nesta tese, a força máxima e a força de ruptura nos grupos controle e experimento apresentaram aumento conforme aumentava o tempo de cicatrização. Houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos controle e experimento nos subgrupos 21 e 90 dias, sendo que ao 90° este foi maior no grupo experimento, inclusive para a variável tensão.

Tenius (2003) comprovou através de medidas de tensiometria em incisão linear no dorso de ratos, que os corticosteróides foram responsáveis pela menor resistência à tração no 14° dia de PO.

Riet *et al.* (2004), em estudo controlado e randomizado em modelo experimental de reparo de hérnias ventrais com tela de polipropileno e tela de polipropileno associada a colágeno em ratos, verificaram que a força de tração nos enxertos com tela de polipropileno com colágeno foi maior ($P=0,006$) do que no outro grupo.

Jackson, Corsetti e Simon (1996) descrevem as alterações biomecânicas sofridas pelos enxertos homólogos congelados. No tempo zero até quatro semanas de PO, os enxertos homólogos congelados apresentam propriedades biomecânicas menores que enxertos autólogos. Contudo após 24 semanas não há diferenças significativas quanto às variáveis de força entre os enxertos e, por vezes, devido a sua hipercelularidade e maior deposição de colágeno tipo I, podem apresentar valores maiores de tensão (MAEDA *et al.*, 1997). O presente estudo verificou ausência de diferenças estatisticamente significativas entre controle e experimento aos 180° de PO. Porém, os valores de tensão foram menores nas fases tardias da cicatrização, mesmo com quantidades maiores de

colágeno tipo I, em relação às fases precoces, discordando dos trabalhos acima. Este fenômeno ocorreu tanto no grupo experimento como no grupo controle, sem haver diferença estatística entre eles.

Dado interessante observado neste estudo é que todas as forças de tensiometria apresentaram diferença significativamente estatística aos 90 dias, sendo maior no grupo experimento, ou seja, maiores valores no grupo que utilizou o enxerto. Esse dado é corroborado por Monaco e Lawrence (2003) que relataram que após três meses os tecidos lesados recuperam 80% de sua força tênsil em relação ao tecido íntegro. Segundo os mesmos autores, isto se deve ao predomínio de fibras colágenas na matriz extracelular. Estas fibras apresentam, mesmo sendo finas, ou seja, colágeno tipo III, disposição espacial restaurada, bem como espaços interfibrilares reduzidos, com pico de deposição da elastina. Esses fatores concedem as características biomecânicas ao tecido cicatricial, conferindo valores tensiométricos equivalentes, ou até mesmo melhores que o tecido íntegro.

Outra explicação para esses resultados podem ser encontrados no trabalho de Dubay e Franz (2003) que sugerem um ganho extra nas variáveis tensiométricas devido às telas e enxertos agirem como uma ponte para um grande influxo de células do hospedeiro. Esta hiper celularidade, que em um primeiro momento consiste de PMN, após quatro semanas apresenta-se com predomínio de MNM, principalmente, fibroblastos. Tanto pelo maior número de células, como também, pela quantidade de produtos sintetizados por estas (colágeno, hidroxiprolina, elastina) ocorre um ganho importante de forças mecânica do tecido. Essa é a explicação para os valores estatisticamente maiores das variáveis tensiométricas aos 90 dias de PO encontradas neste estudo. Soma-se a estes fenômenos o estudo de Robson (2003) que demonstrou as características de um tecido em sua fase tardia de cicatrização. Após período de seis meses o remodelamento do colágeno está terminado, com predomínio de colágeno tipo I, contudo, as transformações da matriz extracelular continuam, com redução da quantidade de água, deposição de proteoglicanas e redução da síntese de elastina. Estas transformações conferem características fibrosas ao tecido, reduzindo sua elasticidade e suas forças biomecânicas. Tais dados foram encontrados nesta tese, principalmente, na variável tensão que apresentou valores menores nas fases finais da cicatrização.

A existência de correlação entre a força máxima, força de ruptura e tensão são conceitos físicos lógicos e bem estabelecidos na literatura (Nelson; Dennis, 1951; Nishihara; Prudden, 1959; Adamsons; Enquist, 1963; Holm-Pedersen; Viidik, 1972; Tera; Aberg, 1976). Contudo, Van Winkle (1969) referiu que a força de ruptura pode sofrer interferência de fatores externos, como a idade do doador do tecido analisado, apresentando redução desta força, mesmo se a força máxima e a tensão apresentarem-se elevadas. No presente estudo, verificamos correlação positiva entre todas as variáveis, principalmente, entre força máxima e tensão que se apresentaram estatisticamente significantes em todos os subgrupos.

5.10.5 Análise histopatológica

A resposta inflamatória tem início após um trauma e corresponde à primeira fase da cicatrização. Tal fenômeno é freqüentemente estudado nas pesquisas experimentais que versam sobre cicatrização. Existem, porém, poucos estudos que analisaram, com técnica de H/E, à reação da parede abdominal a diferentes tipos de materiais utilizados em enxertos (CLARKE *et al.*, 1996; GAMBA *et al.*, 2002; RIET *et al.*, 2004; SOIDERER *et al.*, 2004). Além disso, não há estudos que analisaram a reação inflamatória em enxerto de diafragma derivado de banco de tecidos, mas somente em enxertos homólogos congelados a seco (LEVINE; SALTZMAN, 1995).

Clarke *et al.* (1996) compararam o uso da tela de polipropileno com a tela de submucosa de intestino delgado no reparo da parede abdominal de 12 cães. Estes autores observaram, na análise histopatológica, que a resposta inflamatória aguda na tela de polipropileno foi observada no primeiro, segundo e quarto mês de avaliação, enquanto que, na tela de submucosa de intestino delgado, esta resposta foi encontrada somente no primeiro mês. Porém, o colágeno da tela de submucosa foi mais organizado e contrastou com os granulomas fibrosos encontrados em torno da tela de polipropileno.

Gamba *et al.* (2002), em estudo que testou o uso de matriz acelular no reparo de defeitos da parede abdominal em coelhos, evidenciaram na análise histopatológica que o enxerto de diafragma homólogo acelular forneceu substrato para a migração de fibroblastos, deposição de colágeno neoformado e neovascularização. Em todos os animais foram observadas células inflamatórias nove dias após o procedimento cirúrgico e que desapareceram com 40 dias.

Badylak *et al.* (2002) compararam a resposta inflamatória em quatro diferentes enxertos utilizados para a correção de defeitos da parede abdominal, mostrando que a resposta inflamatória em sete dias esteve presente nos quatro grupos, sendo maior no grupo em que foi utilizado matriz extracelular derivada de mucosa de intestino delgado ($P < 0,05$); esta diferença, todavia, não foi observada na análise realizada no trigésimo dia pós-operatório. O infiltrado celular incluiu polimorfonucleares e mononucleares. A presença de mononucleares foi similar em todos os grupos e permaneceu com menos de dez células deste tipo por campo de grande aumento nos animais que foram analisados após dois anos.

Riet *et al.* (2004) observaram células gigantes e aumento do número de linfócitos, plasmócitos, eosinófilos e neutrófilos em torno dos poros das telas de ambos os grupos (tela de polipropileno e tela de polipropileno associada à colágeno).

Soiderer *et al.* (2004), na análise histológica de quatro diferentes tipos de materiais empregados no reparo de defeitos da parede abdominal em ratos (tela de polipropileno, tela derivada de submucosa de bexiga urinária, tela derivada de matriz de cápsula renal e tela derivada de submucosa de intestino delgado), observaram que na tela derivada de submucosa de bexiga urinária a resposta inflamatória foi menor quando comparada com a tela derivada de matriz de cápsula renal e a tela derivada de submucosa de intestino delgado, nas quais a cicatrização evidenciou espessa camada fibrovascular com infiltrado moderado de células inflamatórias.

Este estudo também verificou esse padrão de distribuição celular. Verificou-se predomínio de polimorfonucleares nas fases iniciais da cicatrização (grupo 7 e 21 dias) com diminuição progressiva nas fases tardias (90 e 180 dias). Sendo que, no subgrupo sete dias este predomínio foi maior no grupo experimento ($p < 0,001$). Entretanto, os monomorfonucleares apresentaram comportamento mais irregular com picos de concentração no 14° e 90° dia. As diferenças entre os grupos ocorreram no grupo controle aos 14 dias, e aos 180 dias no grupo experimento. Este dado também difere do estudo de Jackson, Corsetti e Simon (1996) que descreveram as alterações biológicas sofridas pelos enxertos homólogos congelados e enxertos autólogos à fresco durante os diferentes períodos da cicatrização. Verificaram que da quarta até a sexta semana de PO ocorre uma maior hiper celularidade nos enxertos congelados homólogos em relação enxertos a fresco autólogos. Porém, após seis meses de PO não havia mais diferenças do número de

células entre os tipos de enxertos. Um aspecto que pode ser destacado com intuito de esclarecer esta hiper celularidade ainda aos seis meses de PO é a perda da apoptose celular de tecidos cicatriciais. Este fenômeno foi relatado no trabalho de Cross e Mustoe (2003) como consequência da hiperatividade do fator de crescimento tecidual beta (TGF- β) que impede a apoptose das células do tecido cicatricial gerando uma hiper celularidade. A dosagem deste fator de crescimento no presente poderia ser a resposta à hiper celularidade aos seis meses de PO.

5.10.6 Análise do colágeno

Existem vários estudos sobre cicatrização em que o colágeno, estudado com o *Sirus Red*, foi a principal variável estudada (SALMELA, 1981; SHULL; CUTRONEO, 1983; WICKE *et al.*, 2000; OISHI *et al.*, 2002; TENIUS, 2003).

Badylak *et al.* (2002) estudaram o uso de matriz extracelular derivada de submucosa de intestino delgado no reparo de defeitos da parede abdominal em 120 ratos e 40 cães e a compararam com o uso de tela de Marlex®, Dexon® e pericárdio. O colágeno foi avaliado com uma semana, um mês, três meses, seis meses e dois anos. Ao contrário desta dissertação, o colágeno foi avaliado mediante o tricrômico de Gomery. A deposição de tecido conjuntivo foi mais proeminente na avaliação realizada com um mês, mas sua organização foi diferente de acordo com o material usado. A matriz extracelular derivada de submucosa de intestino delgado foi o material que evidenciou a maior organização do tecido conjuntivo a partir do terceiro mês em relação aos outros materiais ($P < 0,01$). A resposta do tecido conjuntivo à tela de Marlex® e ao pericárdio teve relação com o aumento do tecido fibroso denso, compatível com cicatrização. A resposta do tecido conjuntivo ao Dexon® foi de deposição de células adiposas e bandas de tecido fibroso desorganizadas.

Gamba *et al.* (2002) avaliaram o uso de matriz extracelular na correção de defeitos da parede abdominal em coelhos, estudando o colágeno, mediante técnica imunohistoquímica de *Pico-ponceau*, nos dias nove, 40 e 90 pós-operatórios. Os autores verificaram que a reconstrução da parede abdominal com enxerto de diafragma de matriz acelular homólogo demonstrou migração de fibroblastos, deposição de colágeno neoformado e neovascularização.

Riet *et al.* (2004), em ensaio randomizado e controlado, estudaram a tela de polipropileno com colágeno em 20 ratos nos quais foi criada hérnia abdominal ventral e compararam com 20 ratos nos quais o defeito da parede abdominal foi corrigido com tela de polipropileno. Os autores concluíram que significativa redução da adesão esteve presente no primeiro grupo comparado com o grupo controle. Após 30 dias, no entanto, a incorporação da tela de polipropileno e colágeno foi significativamente maior que a tela usada no grupo controle, estando o colágeno resolvido completamente, ou seja, apresentando maior percentagem de colágeno maduro.

No presente trabalho, observamos as mesmas características dos estudos citados. Houve uma tendência de aumento do colágeno tipo I e do IMAc e diminuição do colágeno tipo III conforme aumentava o tempo de cicatrização avaliado. O IMAc foi maior no grupo controle nos subgrupos 7 e 21 dias quando comparado com o grupo experimento. Provavelmente, esse dado se deva ao fato do congelamento levar a morte celular do enxerto e este funcionar como ponte celular para seu repovoamento e remodelamento (FLAHIFF, 1995; DREZ *et al.*, 1991; LIU *et al.*, 1975; MAE *et al.*, 2003), conforme as fases da cicatrização muscular citadas (KALIMO *et al.*, 1997). Como os enxertos congelados demoram mais tempo para serem repovoados e remodelados, evoluem com IMAc menor e menor quantidade de colágeno tipo 1 com relação ao grupo controle.

Shino e Horibe (1991) observaram que aos seis meses de PO os enxertos homólogos congelados demonstravam hipercelularidade, provavelmente fibroblastos e predomínio de fibras de grande diâmetro, ou seja, de colágeno tipo I. Tais dados são corroborados pelos resultados desta tese.

5.10.7 Análise dos imunomarcadores para actina

5.10.7.1 HHF-35

A opção do uso deste marcador no presente estudo foi devido a sua especificidade para a marcação do tecido muscular na tentativa de demonstrar a regeneração muscular na área do enxerto, e não somente a formação de área de fibrose (TSUKADA *et al.*, 1987). Sendo assim, verificou-se a positividade para

HHF35 no grupo experimento o que correspondeu à presença de tecido muscular na área do enxerto.

Andretto *et al.* (2007) utilizou o HHF-35 no estudo da cicatrização de tecidos, marcando, indiretamente, a proliferação dos miofibroblastos e a neovascularização, devido, por sua vez, ao aumento do tecido muscular liso perivascular. Porém, não observou resultados relevantes, não havendo demonstração de proliferação de músculo liso na área de implante de tela de Poliglactina 910 em ratos. Tais dados não corroboram com a presente tese. Nesta pesquisa ocorreu imunomarcação em todos os grupos sendo inclusive, com significância estatística, entre os grupos controle e experimento nos subgrupo sete e 90 dias.

5.10.7.2 Actina Sarcomérica

A Actina Sarcomérica foi empregada neste estudo com o intuito de comprovar a presença de tecido muscular estriado esquelético na área do enxerto. Uma vez que o HHF-35 poderia vir positivo por marcar também tecido muscular liso perivascular e miofibroblastos, a positividade da Actina Sarcomérica ratificaria a regeneração muscular neste local e não somente tecido cicatricial. Tal fenômeno foi constatado neste trabalho.

A contração da ferida operatória ocorre com o objetivo de que menor quantidade de tecido seja recrutada para a cicatrização. De fato, são os fibroblastos, ricos em actina, que geram a força de contração da ferida operatória. A fibronectina é a substância que estimula o fibroblasto a produzir actina em seu interior, inclusive adquirindo uma forma celular mais alongada. Welch, Odland e Clark (1990) foram os primeiros a demonstrar que a formação do tecido de granulação, fibronectina e actina precedem a contração da ferida operatória. Os fibroblastos ricos em actina são as células mais numerosas nos tecidos de cicatrização e estão alinhados com as linhas de contração da cicatriz, ao contrário dos capilares e dos macrófagos (SKALLI *et al.*, 1988). Extensas faixas de actina são observadas já no dia 7 de cicatrização (WELCH; ODLAND; CLARK, 1990), evidenciando que este fenômeno precede a contratura da cicatriz operatória. No presente estudo a actina sarcomérica evidenciou um aumento no 14º dia e uma diferença estatisticamente significativa somente na comparação entre os grupos controle e experimento no grupo do D7, sendo maior no grupo experimento.

5.10.7.3 Calponina

A escolha da Calponina neste estudo deu-se por dois motivos: primeiramente, por ser um anticorpo monoclonal de actina, fechando sua avaliação com a marcação do tecido muscular liso e, finalmente, mas de maior importância, devido sua função como marcador de miofibroblastos, representante da fase de remodelamento da cicatrização.

A calponina h2 exerce função na formação do citoesqueleto de actina (JE *et al.*, 2001; LEINWEBER *et al.*, 2000), tendo importante função na contração da cicatriz. Hossain *et al.* demonstraram altos níveis de calponina em queratinócitos e fibroblastos em células cultivadas em uma placa com “gel duro”, ou seja, com maior tração da matrix celular, em relação àqueles cultivados na placa com “gel mole”. Estes autores sugerem que a calponina represente uma manifestação da tensão mecânica responsiva à regulação gênica que pode modificar a função do citoesqueleto. A calponina esteve presente em todos os subgrupos de nosso trabalho, com prevalência nos subgrupos 14 e 21 dias do grupo controle ($p < 0,005$). Embora não haja uma explanação para este dado, os resultados desta tese corroboram a existência de músculo liso, e não somente músculo estriado, no processo de cicatrização. O músculo liso identificado pela calponina é o resultado da imunomarcagem dos miofibroblastos e das células musculares lisas presentes nas paredes dos vasos sangüíneos, representando dessa forma as fases de proliferação e remodelamento da cicatrização.

5.10.8 Correlações entre os desfechos

O presente estudo verificou correlação diretamente proporcional dos monomorfonucleares com o colágeno tipo III, no grupo controle no 14° e 21° dia de PO. Os MMN também apresentaram correlações, mas inversamente proporcionais, com as variáveis tensiométricas (força máxima, tensão e força de ruptura) no grupo controle, aos 21 dias e, no grupo experimento, aos 14 dias de PO. Estes resultados diferem da literatura, pois segundo Steed (2003) os monomorfonucleares, dentre os quais os fibroblastos, são os produtores do colágeno. Esta proteína confere propriedades biomecânicas aos tecidos (DANG *et al.*, 2003). Portanto, a hiperplasia dos enxertos homólogos congelados favorecerá uma maior

síntese de colágeno conferindo desta maneira melhor força máxima (LAWHORN; HOWELL, 2003). Nesta tese observamos essa correlação celularidade e colágeno, mas esse foi tipo imaturo (III), sem apresentar a correlação com a tensitometria no grupo experimento.

As correlações entre as variáveis tensiométricas e colágeno tipo I ou IMAc, somente em animais do grupo controle aos 21 dias de PO observadas neste estudo, não foram encontradas na literatura. Maeda *et al.* (1997) e Jackson, Corsetti e Simon (1996) analisaram as alterações biológicas e biomecânicas da incorporação e remodelamento dos enxertos homólogos congelados. Verificaram que os enxertos congelados apresentam hiper celularidade quando comparados aos tecidos autólogos, por atuarem como ponte para as células do hospedeiro. Devido à grande quantidade de fibroblasto e de fatores mediadores ocorre grande síntese de colágeno, conferindo melhora nas propriedades biomecânicas dos tecidos. Discordando, portanto, dos achados do presente estudo.

Hipóteses biológicas para tais correlações podem ser sugeridas baseadas nos achados de Cross e Mustoe (2003), e Robson (2003). Estes autores verificaram que na fase de remodelamento da cicatrização ocorre redução de fatores de crescimento envolvidos nas fases iniciais da cicatrização, com picos do TGF- β . Este fator de crescimento inicialmente promove a diferenciação de fibroblasto em miofibroblasto, com grande quantidade de filamentos de actina que conferem elasticidade ao tecido melhorando as características biomecânicas. Nos estágios tardios do remodelamento cicatricial o TGF- β é bloqueado levando a apoptose das células endoteliais e dos miofibroblastos, gerando áreas de cicatriz acelular. Estas regiões acelulares apresentam baixíssima elasticidade conferindo, em última instância, redução da força máxima, da tensão e da força de ruptura. Portanto, as fases tardias da cicatrização, mesmo constituídas de fibras colágenas espessas e em maior quantidade, podem não apresentar correlação com as variáveis tensiométricas, como os achados do presente estudo.

Verificamos ainda neste estudo correlação negativa da Actina Sarcomérica com o colágeno tipo I e IMAc aos 90 dias de PO e com a força de ruptura aos 21 dias de PO no grupo controle. Tais dados diferem da literatura que demonstra que esta fase de remodelamento se caracteriza pela maturação das miofibras e por uma gradual recuperação das propriedades funcionais do músculo (FERRARI *et al.*, 2005). O volume de capilares diminui gradativamente, as fibras colágenas tipo I, sintetizadas

pelos fibroblastos, se espessam e são reorientadas, ocorrendo restauração da capacidade funcional do músculo (MENETREY *et al.*, 2000). Verificamos que a força de ruptura ainda permanece alterada, talvez devido a menor quantidade de tecido fibroso e à maior quantidade de tecido muscular.

O HHF-35 e a Calponina apresentaram correlação indireta com a tensão nos grupos experimento, 7º dia de PO, e controle, 90º dia de PO. Isso se deve, na fase precoce da cicatrização grupo experimento, ao grande influxo de células no enxerto, principalmente, miofibroblastos, e às quantidades de colágeno tipo I escassas, conferindo baixa resistência ao tecido (FOLLONIER *et al.*, 2008). Já nas fases tardias, há redução dos miofibroblastos, maiores quantidades de tecido muscular e colágeno I conferindo à amostra maior tensão (GABBIANI, 1998).

5.11 PERSPECTIVAS

Em relação à cicatrização, devido ao fato do conhecimento desta ter passado do nível celular para o biomolecular, novas estratégias têm sido pesquisadas e utilizadas com sucesso em experimentos de cicatrização, tais como gene terapia, a terapia celular, a engenharia de tecidos e a cirurgia reconstrutiva (JENKINS *et al.*, 2003). Dentre estas novas áreas de conhecimento, a terapia gênica é uma das mais promissoras.

A terapia gênica apresenta-se como uma nova e emergente tecnologia que emprega o processo de manipulação de genes e a inserção destes, geralmente mediante vetores virais, em células receptoras do organismo. No que tange à cicatrização, sabe-se que o profundo conhecimento adquirido recentemente em relação aos fatores de crescimento torna-os importantes alvos desta nova modalidade terapêutica (PETRIE; YAO; ERIKSSON, 2003).

Com as observações iniciais de que fatores de crescimento, tais como, fator de crescimento derivado de plaquetas, fator de crescimento de fibroblastos, fator de crescimento endotelial, entre outros, encontravam-se diminuídos em úlceras de pele crônicas e aumentados naquelas que apresentavam tendência a cura, estas citocinas começaram a ser utilizadas topicamente em cicatrizes crônicas. O resultado desejado, porém, não foi observado, porque estas substâncias, além de terem meia-vida curta, eram inativadas por proteases. As recentes pesquisas de

terapia gênica vislumbra a inserção de células epiteliais com DNA modificado em tecido lesado (PETRIE; YAO; ERIKSSON, 2003).

Dubay e Franz (2003) apresentam os *priming*, fatores de crescimento fibroproliferativos, como o TGF- β injetados nos bordos das incisões com intuito de reduzir a formação de hérnias incisionais.

Howdieshell *et al.* (2003) e Schwentker e Billiar (2003) descreveram estudos em animais e in vitro com a utilização de óxido nítrico tópico, dieta de arginina ou hiperexpressão da iNOS (inibição da óxido nítrico sintetase) via terapia gênica promovendo aumento da quantidade de colágeno nas feridas.

Dang *et al.* (2003) relatou a descoberta genes que estão relacionados com a cicatrização dos tecidos como o HOX A4, HOX A5, HOX A7, HOX B13, MSX-1, MSX-2, MOX-1 e PRX-2. Os principais são o HOX B13 que apresenta sua expressão diminuída e PRX-2 com expressão aumentada durante os processos de reparo cicatricial. Os pesquisadores procuram agora uma maneira de controlar a expressão desses genes com intuito de melhorar a cicatrização dos tecidos.

O próximo passo na evolução dos reparos dos defeitos da parede abdominal, segundo Zhang e Chang (2003), é a engenharia de tecidos. A confecção de tecidos musculotendinosos envolve o uso de cultura de células e fatores de crescimento para a formação de enxertos (BANNASCH *et al.*, 2003; BACH *et al.*, 2003; MILLER; PATRICK, 2003; GARFEIN, 2003; MANN, 2003). Segundo Atala (2003) e Jenkins *et al.* (2003) a associação das técnicas de engenharia de tecidos com as novas pesquisas com células tronco (YUE *et al.*, 1988; WHITE *et al.*, 2000; COLLINS; GROUNDS, 2001; GROUNDS *et al.*, 2002; KAMI; SENBA, 2002; FUCHS *et al.*, 2004) serão as grandes contribuições dos próximos séculos.

6 CONCLUSÕES

1. Não foram verificadas complicações pós-operatórias nos casos estudados.
2. No grupo experimento, todos os enxertos mantiveram-se íntegros.
3. Em relação às aderências, não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos.

4. Na avaliação da resistência todas as variáveis (tensão, força máxima e força de ruptura), apresentaram maiores valores no grupo experimento com $P < 0,05$. A tensão foi maior nas fases iniciais da cicatrização, enquanto que, a força máxima e a força de ruptura cursaram com aumento progressivo dos seus valores conforme a evolução da cicatrização ($p < 0,05$ entre os subgrupos sete e 90 dias, entre sete e 180 dias, entre 14 e 180 dias, e entre 21 e 180 dias de PO) em ambos os grupos.

5. Na análise histopatológica houve predomínio de PMN nas fases precoces da cicatrização (subgrupo sete dias do grupo experimento e 21 dias no grupo controle) e de MMN nas fases tardias (subgrupo 180 dias do grupo experimento e 21 dias do grupo controle), todos com $P < 0,05$.

6. Em relação à morfometria do colágeno: houve predomínio de colágeno tipo I e maior IMaC no subgrupo 21 dias do grupo controle ($P < 0,05$). O mesmo predomínio foi verificado no subgrupo 7 dias do grupo controle ($P < 0,05$) porém sem estar acompanhado de maior IMaC. Houve predomínio do colágeno tipo III nos subgrupos sete dias e 21 dias do grupo experimento ($P < 0,001$).

7. Em relação à avaliação imunohistoquímica dos marcadores actínicos, houve maior positividade para HHF-35 nos subgrupos sete e 90 dias do grupo experimento ($P < 0,05$). Notou-se aumento progressivo da quantidade de HHF-35 nas amostras nos subgrupos com $p < 0,05$ no grupo experimento.

A actina sarcomérica foi positiva em todas as amostras, confirmando a existência de tecido muscular esquelético no enxerto, tendo predomínio, estatisticamente significativo, no subgrupo sete dias. Verificou-se ainda, $p < 0,001$, quanto a diferença de actina sarcomérica entre os subgrupos 14 e 21 dias, no grupo experimento, comprovando a maior quantidade de tecido muscular esquelético na área de enxerto aos 21 dias.

A calponina mostrou ser ótimo marcador de miofibroblastos na avaliação da cicatrização da parede abdominal, sendo predominante no subgrupo sete e 21 dias do grupo controle ($P < 0,01$).

REFERÊNCIAS

- ADAMSONS, R. J.; ENQUIST, I. F. The relative importance of suture to the strength of healing wounds under normal and abnormal conditions. **Surgery, Gynecology & Obstetrics**, Chicago, v.117, p.396-401, Oct. 1963.
- ADZICK, N. S. *et al.* Comparison of fetal, newborn, and adult wound healing by histologic, enzyme-histochemical, and hydroxyproline determinations. **Journal of Pediatric Surgery**, New York, v.20, n.4, p.315-319, Aug. 1985.
- AGUILAR-NASCIMENTO, J. E. *et al.* Deflazacort e cicatrização de anastomoses colônicas: estudo experimental em ratos. **Revista da Associação Médica Brasileira**, São Paulo, v.46, n.3, p.218-223, 2000.
- ALIABADI-WAHLE, S. *et al.* Evaluation of a novel synthetic material for closure of large abdominal wall defects. **Surgery**, St. Louis, v.119, n.2, p.141-145, Feb. 1996.
- ALLEN, R. G; WRENN, E. L. Silon as a sac in the treatment of omphalocele and gastroschisis. **Journal of Pediatric Surgery**, New York, v.4, n.1, p.3-8, Feb. 1969.
- ALVES, M. R. **Influência da nicotina, durante a gestação e lactação, na cicatrização da parede abdominal de ratos lactentes: estudo tensiométrico, morfométrico e imunoistoquímico.** Curitiba, 2006, 121f. Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Paraná.
- ALVES, M. T. S.; ROMAN, L. C. M. Estudo do efeito de distintos períodos de fixação em formalina e métodos de recuperação antigênica na técnica imuno-histoquímica. **J. Bras. Patol. Med. Lab.**, v.41, n.1, p.43-49, Fev., 2005.
- AMUNDSEN, C. L. *et al.* Outcome in 104 pubovaginal sling using freeze-dried allograft fascia lata from a single tissue bank. **Urology**, Belle Mead, v.4, n.56, p.2-8, Dec. 2000.
- ANDRADE, V. P. *et al.* O arranjo em matriz de amostras teciduais (*tissue microarray*): larga escala e baixo custo ao alcance do patologista. **Journal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, São Paulo, v. 43, n. 1, p. 55-60, fev. 2007.
- ANDRETTO, A. *et al.* Reação tecidual associado ao implante de tela de poliglactina 910 em camundongos: Estudo histopatológico com parâmetros imunohistoquímicos. **Revista Brasileira de Videocirurgia**, Rio de Janeiro, v.5, n.3, p.128-133, jul./set. 2007.
- ANSTEAD, G. M. Steroids, retinoids, and wound healing. **Advanced Wound Care**, New York, v.11, n.6, p.277-285, Oct. 1998.
- API, A. *et al.* Intestinal damage in gastroschisis correlates with the concentration of intraamniotic meconium. **Journal of Pediatric Surgery**, New York, v.36, n.12, p.1811-1815, Dec. 2001.

ARGENTA, L. C; MARKS, M. W; PASYK, K. A. Advances in tissue expansion. **Clinics in Plastic Surgery**, Philadelphia, v.12, n.12, p.159-160, 1985.

ARNAUD, J. P. *et al.* Critical evaluation of prosthetic materials in repair of abdominal wall hernias. **The American Journal of Surgery**, Belle Mead, v.133, n.3, p.338-345, Mar. 1977.

ATALA, A. Tissue engineering, stem cells, and cloning for the regeneration of urologic organs. **Clinics in Plastic Surgery**, Philadelphia, v.30, n.4, p.649-667, Oct. 2003.

AZEVEDO, M. L. V. **Alterações imunohistoquímicas de timos de ratos neonatos desnutridos intra-útero, utilizando a técnica do *Tissue Microarray***. 104 f. Dissertação (Mestrado) – Pontifícia Universidade Católica, Curitiba, 2006.

BACH, A. D. *et al.* Engineering of muscle tissue. **Clinics in Plastic Surgery**, Philadelphia, v.30, n.4, p.589-599, Oct. 2003.

BADYLAK, S. *et al.* Morphologic study of small intestinal submucosa as a body wall repair device. **Journal of Surgical Research**, New York, v.103, n.2, p.190-202, Apr. 2002.

BAERG, J. *et al.* Gastroschisis: A sixteen-year review. **Journal of Pediatric Surgery**, New York, v.38, n.5, p.771-774, May 2003.

BALDERRAMA, C. M. S. R. **Características biofísicas e microscópicas da reação capsular aos revestimentos de próteses mamárias texturizada e espuma de silicone: estudo em ratos**. Curitiba, 2008, 69f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade Evangélica do Paraná.

BANNASCH, H. *et al.* Skin tissue engineering. **Clinics in Plastic Surgery**, Philadelphia, v.30, n.4, p.573-579, Oct. 2003.

BAYKAL, A. *et al.* Effects of polyglycolic acid and polypropylene meshes on postoperative adhesion formation in mice. **World Journal of Surgery**, New York, v.2, n.6, p.579-582; discussion 582-583, JulyAug. 1997.

BAWAZIR, O. A.; WONG, A.; SIGALET, D. L. Absorbable mesh and skin flaps of grafts in the management of ruptured giant omphalocele. **Journal of Pediatric Surgery**, New York, v.38, n.5, p.725-728, May 2003.

BELLÓN, J. M. *et al.* Neoperitoneal formation after implantation of various biomaterials for the repair of abdominal wall defects in rabbits. **European Journal of Surgery**, Oslo, v.165, n.2, p.145-150, Feb. 1999.

BELLÓN, J. M. *et al.* The structure of a biomaterial rather than its chemical composition modulates the repair process at the peritoneal level. **The American Journal of Surgery**, Belle Mead, v.184, n.2, p.154-159, Aug. 2002.

BERG, J. S. V.; ROBSON, M. C. Arresting cell cycles and the effect on wound healing. **Surgical Clinics of North America**, Philadelphia, v.83, n.4, p.509-520, 2003.

BERNACCHIO, R. M. G. **Quantificação de miofibroblastos em tecido cutâneo de ratos submetidos à incisão cirúrgica com lasers de CO₂ e diodo, bisturi elétrico e convencional.** 2007, 66f, Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo.

BETTES, P. S. L. **Análise comparativa histológica e tensiométrica entre a cicatrização de feridas cutâneas tratadas com o adesivo Octil-2-cianocrilato e com sutura intradérmica em ratos.** Curitiba, 2003, 98f. Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Paraná.

BETTIN, D. *et al.* Good preservation of initial mechanical properties in lipid-extracted, disinfected, freeze-dried sheep patellar tendon grafts. **Acta Orthopédica Scandinavica**, Oslo, v.74, n.4, p.470-475, 2003.

BIANCHI, A.; DICKSON, A. P. Elective delayed reduction and no anesthesia: “minimal intervention management” for gastroschisis. **Journal Pediatric Surgery**, New York, v.33, n.9, p.1338-1940, May 1998.

BIANCHI, A.; DICKSON, A. P.; ALIZAI, N. K. Elective delayed midgut reduction – no anesthesia for gastroschisis: Selection and conversion criteria. **Journal of Pediatric Surgery**, New York, v.37, n.9, p.1334-1336, Sept. 2002.

BIONDO-SIMÕES, M. L. P., *et al.* O hormônio de crescimento e a concentração de colágeno na cicatrização de feridas cutâneas de ratos. **Acta Cir. Bras.**, São Paulo, v.15, suppl.3, p.78-82, 2000.

BIONDO-SIMÕES, M. L. P., *et al.* Efeitos do envelhecimento na cicatrização da parede abdominal, em ratos. **Acta Cir. Bras.**, São Paulo, v.20, n.2, p. 124-133, 2005.

BIRK, D. E.; MAYNE, R. Localization of collagen types I, III and V during tendon development. Changes in collagen types I and III are correlated with changes in fibril diameter. **European Journal of Cell Biology**, Stuttgart, v.72, n.4, p.352-361, Apr. 1997.

BLAKELOCK, R. T.; HARDING, J.E.; KOLBE, A. Gastroschisis: can the morbidity be avoided? **Pediatric Surgery International**, Berlin, v.12, n.3, p.276-282, 1997.

BORGSTEIN, E. S. Gastroschisis minor. **Journal of Pediatric Surgery**, New York, v.36, n.10, p.1540-1541, Oct. 2001.

BURNS, J. L.; MANCOLL, J. S.; PHILLIPS, L. G. Impairments to wound healing. **Clinics in Plastic Surgery**, Philadelphia, v.30, n.1, p.47-56, Jan. 2003.

CAMARGO, P. A. M. Estudo imunoistoquímico da angiogênese e da fibrogênese na prega vocal de suínos após exérese de fragmentos de mucosa utilizando instrumental a frio e laser CO₂. 2007, 95f, Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Paraná.

CAMPOS, A. C. L. *et al.* Factors influencing outcome in patients with gastrointestinal fistula. **Surgical Clinics of North American**, Philadelphia, v.76, n.5, p.1191-1198, 1996.

CAMPOS, E. C. **Isoproterenol induz a perda de distrofina: correlação com a injúria miocárdica**. 2008, 90f, Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo.

CAMERON R. R. *et al.* Freeze-dried composite tendon allografts: an experimental study. **Plastic & Reconstructive Surgery**, Baltimore, v.47, n.1, p.39-46, Jan. 1971.

CANTY, T. G. Sr. *et al.* Separation of omphalopagus twins: unique reconstruction using syngeneic cryopreserved tissue. **Journal of Pediatric Surgery**, New York, v.33, n.5, p.750-753, May 1998.

CARLSON, M. A. Acute wound failure. **Surgical Clinics of North America**, Philadelphia, v.77, n.3, p.607-636, 1997.

CAVALCANTE, R. B. *et al.* Immunohistochemical expression of vimentin, caponin na HHF-35 in salivary gland tumors. **Brazilian Dental Journal**, Ribeirão Preto, v.18, n.3, p.192-197, 2007.

CAVAZANA, W. C. *et al.* Sugar (sucrose) and fatty acid compounds with triglycerides on the treatment of wounds: experimental study in rats. **An. Bras. Dermatol.**, Rio de Janeiro, v.84, n.3, July, 2009.

CHITTY, L.; ISKAROS, J. Congenital anterior abdominal wall defects. **British Medical Journal**, London, v.313, n.7062, p.891-892, Oct. 1996.

CLARKE, K. M. *et al.* Intestine submucosa and polypropylene mesh for abdominal wall repair in dogs. **Journal of Surgical Research**, New York, v.60, n.1, p.107-114, Jan. 1996.

CNOTA, M. A. *et al.* Development of novel synthetic material to close abdominal wall defects. **The American Surgeon**, Atlanta, v.64, n.5, p.415-418, May 1998.

COLLINS, R. A.; GROUNDS, M. D. The role of tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) in skeletal muscle regeneration: studies in TNF- α (-/-) and TNF- α (-/-)/LT- α (-/-) mice. **The Journal of Histochemistry & Cytochemistry**, New York, v.49, n.8, p.989-1001, 2001.

COMROE, J. H. JR. Retrospectroscope redux: who was Alexis who? **Respiratory Care**, Boston, v.43, n.2, p.131-141, Feb. 1998.

CORREIA-PINTO, J. *et al.* Meconium dependence of bowel damage in gastroschisis. **Journal of Pediatric Surgery**, New York, v.37, n.1, p.31-35, Jan. 2002.

CROSS, K. J.; MUSTOE, T. A. Growth factors in wound healing. **Surgical Clinics of North America**, Philadelphia, v.83, n.4, p.531-545, 2003.

CURTIS, A. S. *et al.* An in vivo microfabricated scaffold for tendon repair. **Eur. Cell Mater**, v.11, n.9, p.50-57, May, 2005.

DAL PAI SILVA, M.; CARVALHO, R. F. Mecanismos celulares e moleculares que controlam o desenvolvimento e o crescimento muscular. **R. Bras. Zootec.**, v.36, p.21-31, 2007

DANG, C. *et al.* Fetal wound healing current perspectives. **Clinics in Plastic Surgery**, Philadelphia, v.30, n.4, p.13-23, 2003.

DANNINGER, C.; GIMONA M. Live dynamics of GFP-calponin: isoform-specific modulation of the actin cytoskeleton and autoregulation by C-terminal sequences. **J Cell Sci.**, Washington, v.113, n. 21, p.3725-36, Nov. 2000.

DAVENPORT, M. *et al.* Closed gastroschisis: Antenatal and postnatal features. **Journal of Pediatric Surgery**, New York, v.36, n.12, p.1834-1837, Dec. 2001.

DAVIES, B. W.; STRINGER, M. D. The survivors of gastroschisis. **Archives of Diseases in Childhood**, London, v.77, n.2, p.158-160, Aug. 1997.

DISA, J. J.; KLEIN, M. H.; GOLDBERG, N. H. Advantages of autologous fascia versus synthetic patch abdominal reconstruction in experimental animal defects. **Plastic & Reconstructive Surgery**, Baltimore, v.97, n.4, p.801-806, Apr. 1996.

DISA, J. J.; KLEIN, M. H.; GOLDBERG, N. H. Restoring abdominal wall integrity in contaminated tissue-deficient wounds using autologous fascia grafts. **Plastic & Reconstructive Surgery**, Baltimore, v.101, n.4, p.979-986, Apr. 1998.

DOLGIN, S. E.; MIDULLA, P.; SHLASKO, E. Unsatisfactory experience with 'Minimal Managment' for gastroschisis. **Journal of Pediatric Surgery**, New York, v.35, n.10, p.1437-1439, Oct. 2000.

DONOFF, R. B.; GRILLO, H. The effects of skin grafting on healing open wounds in rabbits. **Journal of Surgical Research**, v.19, n.3, p. 163-167, Sept. 1975.

DOSTAL, H. G; GAMELLI, R. L. The differential effect of corticosteroids on wound disruption strength in mice. **Archives of Surgery**, Chicago, v.125, n.5, p. 636-640, 1990.

DREZ, D. J. *et al.* Anterior cruciate ligament reconstruction using bone-patellar tendon-bone allografts. **The American Journal of Sports Medicine**, Waltham, v.19, n.3, p.256-263, 1991.

DRIVER, C. P. *et al.* The contemporary outcome of gastroschisis. **Journal of Pediatric Surgery**, New York, v.35, n.12, p.1719-1723, Dec. 2000.

DUBAY, D. A.; FRANZ, M. G. Acute wound healing: the biology of acute wound failure. **Surgical Clinics of North America**, Philadelphia, v.83, n.3, p.463-481, June 2003.

ENGUM, S. A. *et al.* Gastric tonometry and direct intraabdominal pressure monitoring in abdominal compartment syndrome. **Journal of Pediatric Surgery**, New York, v.37, n.2, p.214-218, Feb. 2002.

ENIS, D. R. *et al.* Induction, differentiation, and remodeling of blood vessels alter transplantation of Bcl-2-transduced endothelial cells. **PNAS**, v.102, n.2, p.425-430, Jan., 2005.

FERRARI, R. J. *et al.* Processo de regeneração na lesão muscular: uma revisão. **Revista Fisioterapia em Movimento**, v.18, n.2, p.63-71, 2005.

FLAHIFF, C. M. Biomechanical analysis of patellar tendon allografts as a function of donor age. **American Journal Sports Medicine**, Greenwich, v.23, n.3, p.354-358, May/June 1995.

FLETCHER, R. H.; FLETCHER, S. W.; WAGNER, E. H. **Epidemiologia clínica: bases científicas da conduta médica**. Porto Alegre: Artes Médicas, 1989.

FOLLONIER, L. et al. Myofibroblast communication is controlled by intercellular mechanical coupling. **Journal of Cell Science**, v.121, n.20, p.3305-3316, 2008.

FONSECA, V. R. C. D. **Estudo da angiogênese. Fibrogênese e presença de sinéquias após exérese de fragmento de mucosa de pregas vocais de suínos utilizando instrumental frio e mitomicina-C tópica através de método imunoistoquímico**. 2008, 58f, Tese (Doutorado) – Faculdade Evangélica do Paraná/IPEM.

FORREST, L. Current concepts in soft connective tissue wound healing. **British Journal of Surgery**, Guildford, v.70, p.133-140, 1983.

FUCHS, J. R. et al. Diaphragmatic reconstruction with autologous tendon engineered from mesenchymal amniocytes. **Journal of Pediatric Surgery**, New York, v.39, n.6, p.834-838, June 2004.

FUKUI, Y. et al. The presence of h2-calponin in human keratinocyte. **Journal of Dermatological Science**, Amsterdam, v.14, n.1, p.29-36, 1997.

GABBIANI, G. Evolution and clinical implication of myofibroblast concept. **Cardiovascular Research**, v.38, p.545-548, 1998.

GAMBA, P. G. et al. Experimental abdominal wall defect repaired with acellular matrix. **Pediatric Surgery International**, Berlin, v.18, n.5-6, p.327-331, Sept. 2002.

GARFEIN, E. S. et al. Clinical applications of tissue engineered constructs. **Clinics in Plastic Surgery**, Philadelphia, v.30, n.4, p.485-498, Oct. 2003.

GER, R.; DUBOYS, E. The prevention and repair of large abdominal wall defects by muscle transposition: a preliminary communication. **Plastic & Reconstructive Surgery**, Baltimore, v.72, n.4, p.170-174, 1983.

GÓGIA, P. P. **Fisiologia da cicatrização de feridas: feridas – tratamento e cicatrização**. São Paulo: Revinter, 2003. p.1-9.

GOMES, S. C. et al. Efeito do extrato de *Passiflora Edulis* na cicatrização da parede abdominal de ratos: estudo morfológico e tensiométrico. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 21, suppl.2, p. 9-21, 2006.

GRECA, F. H. et al. Submucosa de intestino delgado no reparo de defeito em parede abdominal de ratos. **Acta Cirúrgica Brasileira**, São Paulo, v.19, n.5, p.471-477, 2004.

GRINNELL, F. Fibroblasts, myofibroblasts and wound contraction. **Journal of Cell Biology**, New York, v. 124, n. 4, p. 401-404, 1994.

GROSS, R. E. A new method for surgical treatment of large omphaloceles. **Surgery**, St. Louis, v.24, n.8, p.277-292, 1948.

GROUND, M.D. *et al.* The role of stem cells in skeletal and cardiac muscle repair. **The Journal of Histochemistry & Cytochemistry**, New York, v.50, n.5, p.589-610, 2002.

GUPTA, A.; JAIN, G.K.; RAGHUBIR, R. A time course study for development of an immunocompromised wound model, using hydrocortisone. **Journal of Pharmacology and Toxicology**, New York, v.41, n.4, p.183-7, 1999.

GURDOL, F. *et al.* Collagen synthesis, nitric oxide and asymmetric dimethylarginine in diabetic subjects undergoing hyperbaric oxygen therapy. **Physiol Res.**, v.12, n.1, Aug., 2009.

HADDAD, C. M. Study on the arterial network of the anterolateral wall of the abdomen. An x-ray study. **AMB Revista da Associação Médica Brasileira**, São Paulo, v.1, n.10, p.255-258, 1968.

HAMILTON, J. E. The repair of large or difficult hernias with matted onlay grafts of fascia lata: a 21-year experience. **Annals of Surgery**, Boston, v.167, n.1, p.85-90, Jan. 1968.

HEGGERS, J. P. Assessing and controlling wound infection. **Clinics in Plastic Surgery**, Philadelphia, v.30, n.1, p.25-35, Jan. 2003.

HENRY, G.; GARNER, W. L. Inflammatory mediators in wound healing. **Surgery Clinics of North America**, Philadelphia, v. 83, n.4, p.483-507, 2003

HINZ, B.; CELETTA, G.; TOMASEK, J. J.; GABBIANI, G.; CHAPONNIER, C. Alphasmooth muscle actin expression upregulates fibroblast contractile activity. **Molecular Biology of the Cell**, Bethesda, v.12, p. 2730-2741, 2001.

HOLM-PEDERSEN P.; VIIDIK, A. Tensile properties and morphology of healing wounds in young and old rats. **Scandinavian Journal of Plastic and Reconstructive Surgery**, Oslo, v.6, n.1, p.24-35, 1972.

HOSSAIN, M. M. *et al.* Developmentally regulated expression of calponin isoforms and the effect of h2-calponin on cell proliferation. **American Journal of Physiology: Cell Physiology**, Bethesda, v.284, n.1, p.156-67, Jan. 2003.

HOSSAIN, M. M. *et al.* H2 calponin is regulated by mechanical tension and modifies the function of actin cytoskeleton. **The Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v. 280, n.51, p. 42442–42453, Dec. 23, 2005.

HOSSAIN, M. M.; JIN, J. P. Accelerated proliferation and migration of keratinocytes, fibroblasts and macrophages isolated from h2-calponin knockout mice. **Biophysical Journal**, New York, v.96, n.3, p.628a-628a, Feb. 2009.

HOW, H. Y. *et al.* Is Vaginal delivery preferable to elective cesarean delivery in fetuses with a known ventral wall defect? **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, St. Louis, v.182, n.6, p.1527-1534, June 2000.

HOWDIESHELL, T. R. *et al.* Inhibition of inducible nitric oxide synthase results in reductions in wound vascular endothelial growth factor expression, granulation tissue formation, and local perfusion. **Surgery**, St. Louis, v.133, n.5, p.528-537, 2003.

HUANG, Q. *et al.* Role of h2-calponin in regulating macrophage motility and phagocytosis. **The Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v. 283, n.38, p.25887-25899, Sept. 2008.

HUARD, J. *et al.* High efficiency of muscle regeneration following human myoblast clone transplantation in SCID mice. **Journal of Clinical Investigation**, New York, 64, n.3, p.586-599, 1994.

HURME, T. *et al.* Localization of type I and III collagen and fibronectin production in injured gastrocnemius muscle. **Laboratory Investigation**, Baltimore, v.64, n.7, p76-84, 1991.

IZANT, R. J.; BROWN, F.; ROTHMANN, B. F. Current embryology and treatment of gastroschisis and omphalocele. **Archives of Surgery**, Chicago, v.93, n.2, p.49-58, July 1966.

JACKSON, D. W.; CORSETTI, J.; SIMON, T. M. Biologic incorporation of allograft anterior cruciate ligament replacements. **Clinical Orthopaedics & Related Research**, Philadelphia, n.324, p.126-133, Mar.1996.

JAMES, N. L. *et al.* Comparative evaluation of treated bovine pericardium as a xenograft for hernia repair. **Biomaterials**, Berlin, n.12, v.9, p.801-809, Nov. 1991.

JE, H. D. *et al.* Calponin is required for agonist-induced signal transduction--evidence from an antisense approach in ferret smooth muscle. **Journal of Physiology, London**, v. 537, n.Pt 2, p. 567-577, Dec. 2001.

JENKINS, S. D. *et al.* A comparison of prosthetic materials used to repair abdominal wall defects. **Surgery**, St. Louis, v.94, n.2, p.392-397, Aug. 1983.

JENKINS, D. D. *et al.* Tissue engineering and regenerative medicine. **Clinics in Plastic Surgery**, Philadelphia, v.30, n.4, p.581-588, Oct. 2003.

JENSEN, TA. The Tissue Microarray – A technical guide for histologists. **The Journal of Histotechnology**, Bethesda, v. 24, n. 4, p 283, 2001.

JENSEN, TA. Tissue Microarray: Advanced techniques. **The Journal of Histotechnology**, Bethesda, v. 26, n. 2, p 101, 2003.

JEKEL, J. F.; ELMORE, J. G.; KATZ, D. L. **Epidemiologia Bioestatística e Medicina Preventiva**, Porto Alegre: Artes Médicas, 1999.

JOHNSON, D. Graft choice for ACL reconstruction. **ISAKOS**: 02/11/2004.

JORGENSEN, L. N. Collagen deposition in the subcutaneous tissue during wound healing in humans: a model evaluation. **APMIS Suppl**, Copenhagen, v.115, p.1-56, 2003.

JUNQUEIRA, L. C.; BIGNOLAS, G.; BRENTANI, P. R. Picrosirius staining plus polarization microscopy, a specific method for collagen detection in tissue sections. **Histochemical Journal**, London, v.11, n.4, p.447-455, 1979.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Biologia celular e molecular**. 7.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. p.339.

KAGEYAMA, Y. *et al.* Diaphragm reconstruction with autologous fascia lata: report of a case. **Surgery Today**, Tokyo, v.29, p.1285-1286, 1999.

KALIMO, H. *et al.* Soft tissue injuries in sport. **Clinical Orthopaedics**, Philadelphia, v.2, n.5, p.1-24, 1997.

KAMI, K.; SENBA, E. In vivo activation of STAT3 signaling in satellite cells and myofibers in regenerating rat skeletal muscles. **The Journal of Histochemistry & Cytochemistry**, New York, v.50, n.12, p.1579-1589, 2002.

KANAGAWA, S. L. *et al.* Omphalocele in three generations with autosomal dominant transmission. **Journal of Medical Genetics**, London, v.39, n.3, p.184-185, 2002.

KEIRA, M. S. *et al.* Experimental model for collagen estimation in cell culture. **Acta Cir. Bras.**, São Paulo São Paulo, v.19, suppl.1, Dec., 2004.

KER, R. F. The design of soft collagenous load-bearing tissues. **The Journal of Experimental Biology**, New York, v.202, n.23, p.3315-3324, Dec. 1999.

KIDD, N. J. *et al.* Evolution of staged versus primary closure of gastroschisis. **Annals of Surgery**, Philadelphia, v.237, n.6, p.759-765, June 2003.

KIMBLE, R. M. *et al.* Gastroschisis reduction under analgesia in the neonatal unit. **Journal of Pediatric Surgery**, New York, v.36, n.11, p.1672-1674, Nov.2001.

KLEPETKO, W. *et al.* Heterotopic tracheal transplantation with omentum wrapping in the abdominal position preserves functional and structural integrity of a human tracheal allograft. **Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery**, St. Louis, v.127, n.3, p.862-867, Mar. 2004

KLINGE, U. *et al.* Influence of polyglactin-coating on functional and morphological parameters of polypropylene-mesh modifications for abdominal wall repair. **Biomaterials**, Oxford, v.20, n.7, p.613-623, Apr.1999.

KLINGE, U.; SCHUMPELICK, V.; KLOSTERHALFEN, B. Functional assessment and tissue response of short and long term absorbable surgical meshes. **Biomaterials**, Oxford, v.22, n.11, p.1415-1424, June 2001.

KOHLES, S. S. *et al.* A morphometric evaluation of allograft matrix combinations in the treatment of osseous defects in a baboon model. **Calcified Tissue International**, New York, v.67, n.2, p.156-162, Aug. 2000.

KOHYAMA, T. et al. PGD₂ modulates fibroblast-mediated native collagen gel contraction. **Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.**, v.27, n.3, p.375-81, Sep., 2002.

KOIVUSALO, A.; LINDAHL, H.; RINTALA, R. J. Morbidity and quality of life in adult patients with a congenital abdominal wall defect: a questionnaire survey. **Journal of Pediatric Surgery**, New York, v.37, n.11, p.1594-1691, Nov. 2002.

KOMURO H. et al. Mutational analysis of the *bmp-1* gene in patients with gastroschisis. **Journal of Pediatric Surgery**, New York, v.36, n.6, p.885-887, June 2001.

KONONEN, J. et al. Tissue microarrays for high-throughput molecular profiling of tumor specimens. **Nature Medicine**, New York, v. 4, n.7, p. 844-7, 1998.

KUHN, M. A. et al. Abdominal wall repair is delayed during hepatic regeneration. **Journal of Surgical Research**, New York, v.95, n.1, p.54-60, Jan. 2001.

KUMAR et al. Tissue microarrays: a practical guide. **Pathology**, v.36, n.4, p.295-300, 2004.

KYZER S.; SIROTA L.; CHAIMOFF C. Abdominal wall closure with a silastic patch after repair of congenital diaphragmatic hernia. **Archives of Surgery**, Chicago, v.139, n.3, p.296-298, Mar. 2004.

LARSON, G. M.; VANDERTOLL, D. J. Approaches to repair of ventral hernia and full-thickness losses of the abdominal wall. **Surgical Clinics North America**, Philadelphia, v.64, n.2, p.335-349, Apr. 1984.

LAWHORN, K. W.; HOWELL, S. M. Scientific justification and technique for anterior cruciate ligament reconstruction using autogenous and allogeneic soft-tissue grafts. **Orthopedic Clinics of North America**, Philadelphia, v.34, n.1, p.19-30, Jan. 2003.

LEASK, A. et al. Loss of protein kinase C ϵ results in impaired cutaneous wound closure and myofibroblast function. **Journal of Cell Science**, v.121, n.20, p. 3459-3467, 2008.

LEE, H. S.; PARK, K. S. A gastroschisis with antenatal eviceration of entire liver, intestine and stomach. **Yonsei Medical Journal**, Seoul, v.10, n.2, p.196-197, 1969.

LEE, S. C.; JUNG, S. E.; KIM, W. K. Silo formation without suturing in gastroschisis: use of Steridrape for delayed repair. **Journal of Pediatric Surgery**, New York, v.32, n.2, p.66-68, 1997.

LEINWEBER et al. Regulation of protein kinase C by the cytoskeletal protein calponin. **The Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v.275, n.51, p.40329-36, Dec. 2000.

LEMOS, I. C. M. C. **Influência da desnutrição intra-uterina na cicatrização da parede abdominal de ratos lactentes avaliada mediante estudo tensiométrico e da morfometria do colágeno**. 89 f. Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2002.

LEVI, D. M. *et al.* Transplantation of the abdominal wall. **The Lancet**, London, v.361, n.28, p.2173-2176, June 2003.

LEVINE, S.; SALTZMAN, A. Transplantation of the diaphragm in rats. **Laboratory Animal Science**, London, v.45, n.6, 694-695, Dec.1995.

LIONELLI, G. T.; LAWRENCE, W. T. Wound dressings. **Surgical Clinics of North America**, Philadelphia, v.83, n.3, p.617-638, June 2003.

LORENA, D. *et al.* Normal scarring: importance of myofibroblasts. **Wound Repair Regen.**, St. Louis, v. 10, n. 2, p. 86-92, 2002.

LOUREIRO, V. M. Síntese da parede abdominal. Avaliação de dois tipos de sutura contínua em ratos. **Acta Cir. Bras.**, São Paulo, v.18, n.3, p.238-244, 2003.

LIU, T. K. Transplantation of preserved composite tendon allografts. **The Journal of Bone and Joint Surgery**, Boston, v.57^A, n.1, p.65-70, Jan. 1975.

LUIJENDIJK, R. W. *et al.* A comparison of suture repair with mesh repair for incisional hernia. **New England Journal Medicine**, Boston, v.343, n.6, p.392-398, Aug. 2000.

MABUCHI, K. *et al.* Association of calponin with desmin intermediate filaments **The Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v. 272, n.36, p.22662-22666, Sep, 1997.

MAEDA, A. *et al.* Remodeling of allogeneic and autogenous patellar tendon grafts in rats. **Clinical Orthopaedics and Related Research**, Philadelphia, v.1, n.335, p.298-309, Feb.1997.

MAE, T. *et al.* Effect of gamma irradiation on remodeling process of tendon allograft. **Clinical Orthopaedics and Related Research**, Philadelphia, n.414, p.305-314, Sept. 2003.

MAKSoud, J. G. Defeitos da região umbilical e paraumbilical. In: **Cirurgia pediátrica**. São Paulo: Reviver, 2004. p.702-710.

MANN, B. K. Biologic gels in tissue engineering. **Clinics in Plastic Surgery**, Philadelphia, v.30, n.4, p.601-609, Oct. 2003.

MASUDA, H. *et al.* Molecular cloning and characterization of human non-smooth muscle calponin. **Journal of Biochemistry**, Tokyo, v.120, n.2, p.415-24, Aug. 1996.

MASUR, S. K. *et al.* Myofibroblasts from diverse pathologic settings are heterogeneous in their content of actin isoforms and intermediate filament proteins. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, v.60, n.2, p.275-285, Feb., 1996.

MATTHEW, J. D. *et al.* Contractile properties and proteins of smooth muscles of a calponin knockout mouse. **J. Physiol.**, v. 529, n. 15, p.811-824, Dec., 2000.

MAZZANTI, A. *et al.* Músculo diafragma homólogo conservado em solução supersaturada de açúcar para conservação de grande defeito no diafragma de cão. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.31, n.2, p.277-283, 2001.

MEDDINS, R. N. *et al.* A new bioprosthesis in large abdominal wall defects. **Journal of Pediatric Surgery**, New York, v.28, n.5, p.660-663, May 1995.

MENETREY, J. *et al.* Growth factors improve muscle healing in vivo. **Journal of Bone and Joint Surgery**, London, v.82, n.1, p.131-137, Jan. 2000.

MIGUEL, M. C. C. *et al.* Expressão imuno-histoquímica da vimentina e do HHF-35 em fibroma de células gigantes, hiperplasia fibrosa e fibroma da mucosa oral. **J. Appl. Oral. Sci.**, v.11, n.1, p.77-82, 2003.

MILLER, M. J.; PATRICK, C. W. Tissue engineering. **Clinics in Plastic Surgery**, Philadelphia, v.30, n.4, p.91-103, Oct. 2003.

MINKES, R. K. *et al.* Routine of a Silastic® Spring-Loaded Silo for infants with gastroschisis. **Journal of Pediatric Surgery**, New York, v.35, n.6, p.843-846, June 2000.

MIRANDA, M. F. *et al.* Use of plastic hemoderivative bag in the treatment of gastroschisis **Journal of Pediatric Surgery**, New York, v.15, n.1, p.442-444, 1999.

MOLIK, K. A. *et al.* Gastroschisis: A plea for risk categorization. **Journal of Pediatric Surgery**, New York, v.36, n.1, p.51-55, Jan. 2001.

MONACO, J. L.; LAWRENCE, W. T. Acute wound healing, an overview. **Clinics in Plastic Surgery**, Philadelphia, v.30, n.4, p.1-12, 2003.

MOORE, K. L.; PERSAUD, T. V. N. **Embriologia clínica**. 6.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. p.274-281.

MORRIS, D. M. *et al.* Use of carbon fibers for repair of abdominal-wall defects in rats. **Surgery**, St. Louis, v.107, n.6, p.627-631, June 1990.

MOTTA, V. T.; WAGNER, N. B. **Bioestatística**. Caxias do Sul: Educs, 2003.

NAITO, H. *et al.* Xenogeneic embryonic stem cell-derived cardiomyocyte transplantation. **Transplantation Proceedings**, New York, v.36, n.8, p.2507-2508, Oct., 2004.

NARESSE, L.E. *et al.* Aparelho para medida da força de ruptura das anastomoses intestinais. **Revista do Hospital de Clinicas da Faculdade de Medicina de S. Paulo**, São Paulo, v.42, n.5, p.204-208, 1987.

NASH, W. A. Tração e compressão. **Resistência dos materiais**. São Paulo: McGraw-Hill do Brasil, 1972. p.11-20.

NELSON, C. A.; DENNIS, C. Wound healing; technical factors in the gain of strength in sutured abdominal wall wounds in rabbits. **Surgery Gynecology and Obstetrics** Chicago, v.93, n.4, p.461-467, Oct. 1951.

NGUYEN, H.; LIM, J.; DRESNER, M. L. Effect of local corticosteroids on early inflammatory function in surgical wound of rats. **Journal of Ankle Surgery**, local, v.37, n.4, p.313-318, 1998.

NISHIHARA, G.; PRUDDEN, J. F. A quantitative relationship of wound tensile strength to length. **Surgery, Gynecology & Obstetrics**, Chicago, v.107, n.3, p.305-110, Sept. 1958.

OISHI, Y. *et al.* Molecular basis of alteration in skin collagen metabolism in response to in vivo dexamethasone treatment: effects of the synthesis of collagen type I and III, collagenase, and tissue inhibitors of metalloproteinases. **British Journal of Dermatology**, Oxford, v.147, n.5, p.859-868, 2002.

OKLUND, S. A. *et al.* Quantitative comparisons of healing in cranial fresh autografts, frozen autografts and processed autografts, and allografts in canine skull defects. **Clinical Orthopaedics and Related Research**, Philadelphia, n.205, p.269-291, Apr.1986.

OKSALA, O. *et al.* Expression of proteoglycans and hyaluronan during wound healing. **J. Histochem. Cytochem.**, v.43, n.2, p.125-135, Feb., 1995.

OLIVEIRA, S. T. *et al.* Formulações de confrei (*Symphytum officinale L.*) na cicatrização de feridas cutâneas de ratos. **Rev. Fac. Zootec. Vet. Agro.**, v.7, n.1, p.61-65, 2000.

OTTO, V. **Cures d'éventration avec renforcement par un filet de Mersilene® en position preperitoneale.** 90 f. Tese (Doutorado) – Universidade de Genève, Genève, 2003.

PELAEZ MATA, D. *et al.* Fascia lata transplant from cadaveric donor in the reconstruction of abdominal wall defects in children. **Cirurgia Pediátrica**, São Paulo, v.14, n.1, p.28-30, jan. 2001.

PARDINI, T., ALENCAR, P. G. C. Revisão em artroplastia total do quadril: Banco de ossos. In: **Clínica Ortopédica – O Quadril do Adulto.** 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 2001. p.1174-1188.

PEREIRA, R. M. *et al.* New method of surgical delayed closure of giant omphaloceles: Lazaro da Silva's Technique. **Journal of Pediatric Surgery**, New York, v.39, n.7, p.1111-1115, 2004.

PETRIE, N. C.; YAO, F.; ERIKSSON, E. Gene therapy in wound healing. **Surgical Clinics in North America**, Philadelphia, v.83, n.1, p 597-616, 2003.

PIRES, A. *et al.* Democratizando o tissue microarray. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, São Paulo, v.41, n.3, p.141, 2005.

POOLE JR, G. V. Mechanical factors in abdominal wound closure: the prevention of fascial dehiscence. **Surgery**, Philadelphia, v.97, n.6, p.631-640, June 1985.

RADEK, K. A. *et al.* Brewing complications: the effect of acute ethanol exposure on wound healing. **Journal of Leukocyte Biology**, v.86, n.12, p.1-10, Nov., 2009.

RAHBAN, S.R.; GARNER, W. L. Fibroproliferative scars. **Clinics in Plastic Surgery**, Philadelphia, v.30, n.4, p.77-89, 2003.

RATH, A. M. *et al.* Les prothèses pariétales abdominales. **Chirurgie**, Paris, v.121, n.4, p.253-265, 1996.

REZENDE, J. M. **Linguagem médica**. 3.ed. São Paulo:AB, 2004.

RIET, M. V. *et al.* Prevention of adhesion formation to polypropylene mesh by collagen coating. **Surgical Endoscopy**, Berlin, v.18, n.4, p.681-685, Apr. 2004.

ROBSON, M. C. Cytokine manipulation of the wound. **Clinics in Plastic Surgery**, Philadelphia, v.30, n.4, p.57-65, 2003.

ROBSON, M. C. Proliferative scarring. **Surgical Clinics of North America**, Philadelphia, v.83, n.1, p.557-569, 2003.

SAKIHARA, C. *et al.* Expression of calponin mRNA in porcine aortic endothelial cells. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, San Diego, v.15, n.2, p.195-200, May 1996.

SALMELA, K. Comparison of the effects of methylprednisolone and hydrocortisone on granulation tissue development: a experimental study in rat. **Scandinavian Journal of Plastic and Reconstructive Surgery**, Oslo, v.15, n.2, p.87-91, 1981.

SALOMON, L. J. *et al.* Omphalocele: beyond the size issue. **Journal of Pediatric Surgery**, New York, v.37, n.10, p.1504-1505, Oct. 2002.

SANDLER, A. *et al.* A "plastic" sutureless abdominal wall closure in gastroschisis. **Journal of Pediatric Surgery**, New York, v.39, n.5, p.738-741, 2004.

SANTIS, P. M. B. *et al.* Alterações morfológicas do enxerto de submucosa de intestino delgado de cão usado para substituição da parede abdominal de ratos. **Revista do Médico Residente do Hospital Universitário Evangélico de Curitiba HUEC**, Curitiba, v.2, n.2, p.8-11, jul./dez. 2000.

SAPINO, A. *et al.* Routine assessment of prognostic factors in breast cancer using a multicore tissue microarray procedure. **Virchows Arch.**, v.449, p.288-96, 2006.

SCHLATTER, M. *et al.* Improved outcomes in the treatment of gastroschisis using a preformed silo and delayed repair approach. **Journal of Pediatric Surgery**, New York, v.38, n.3, p.459-464, Mar.2003.

SCHNEIDER, S. Intérêt de l'homogreffe de peau Cialit em chirurgie viscérale. **Helvetica Chirurgica Acta**, Schwabe, v.47, p.167-170, 1980.

SCHUSTER, S. R. A new method for the staged repair of large omphaloceles. **Surgery Gynecology Obstetrics**, Chicago, v.125, n.4, p.837-850, Oct.1967.

SCHWENTKER, A.; BILLIAR, T. R. Nitric oxide and wound repair. **Surgical Clinics of North America**, Philadelphia, v.83, n.4, p.521-530, 2003.

SCHURCH, W.; SEEMAYER, T.; GABBIANI, G. The myofibroblast. A quarter century after its discovery. **American Journal of Surgical Pathology**, New York, v. 22, n. 2, p. 141-147, 1998.

SEGEL, S. Y. *et al.* Fetal abdominal wall defects and mode of delivery a systematic review. **Obstetrics & Gynecology**, New York, v.98, n.5, Pt.1, p.867-873, Nov. 2001.

SHINO, K.; HORIBE, S. Experimental ligament reconstruction by allogeneic tendon graft in a canine model. **Acta Orthopaedica Belgica**, Bruxelles, v.57, supl.2, p.44-53, 1991.

SHUL, L. L.; CUTRONEO, K. R.. Glucocorticoids coordinately regulate procollagens type I and type III synthesis. **Journal of Biology & Chemistry**, London, v.258, n.5, p.3364-3369, Mar.1983.

SILVA, A.L. Plástica com saco herniário na correção das hérnias incisionais. **Hospital**, São Paulo, v.79, p.123-124, 1971.

SILVA, A. L. *et al.* Emprego de saco herniário na correção cirúrgica da hérnia incisional longitudinal na criança. **Folha Médica**, São Paulo, v.103, p.73-76, 1991.

SILVERMAN, R. P. *et al.* Restoring abdominal wall integrity in contaminated tissue-deficient wounds using autologous fascia grafts. **Plastic and Reconstructive Surgery**, Baltimore, v.113, n.2, p.673-675, Feb. 2004.

SINGER, A. J.; CLARK, R. A. Cutaneous wound healing. **New England Journal of Medicine**, Boston, v.341, p. 738–746, 1999.

SKALLI, O. *et al.* A monoclonal antibody against α - smooth muscle actin: a new probe for smooth muscle differentiation. **Journal of Cell. Biology**, New York, v.103, n.6, p. 2787-2796, 1986.

SKALLI, O. *et al.* Myofibroblasts from diverse pathologic settings are heterogeneous in their content of actin isoform and intermediate filament proteins. **Lab. Invest.**, v.60, n.2, p275-285, Fev., 1989.

SKINOVSKY, S. **A influência da nicotina na cicatrização de anastomoses do intestino delgado em ratos: angiogênese e miofibroblastos**. 84 f. Tese (Doutorado em Clínica Cirúrgica) – Setor Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005.

SOIDERER, E. E. *et al.* Morphologic study of three collagen materials for body wall repair. **Journal of Surgical Research**, New York, v.118, n.2, p.161-175, May 2004.

SMITH, S. *et al.* Dura versus Gore-Tex as an abdominal wall prosthesis in an open and closed infected model. **Journal of Pediatric Surgery**, New York, v.24, n.6, p.519-521, June 1989.

SMITH, C. W.; YOUNG, I. S; KEARNEY, J. N. Mechanical properties of tendons: changes with sterilization and preservation. **Journal of Biomechanical Engineering**, Cheng Tu, v.118, n.1, p.56-61, Feb.1996.

STEED, D. L. Wound healing. **Surgical Clinics of North America**, Philadelphia, v.83, n.3, p.xi-xii, June 2003.

STEED, D. L. Wound-healing trajectories. **Surgical Clinics of North America**, Philadelphia, v.83, n.3, p.547-555, June 2003.

STRICKLAND, S. M.; MACGILLIVRAY, J. D.; WARREN, R. F. Anterior cruciate ligament reconstruction with allograft tendons. **Orthopedic Clinics of North America**, Philadelphia, v.34, n.1, p.41-47, Jan. 2003.

SUITA, S. *et al.* Changing profile of abdominal wall defects in Japan: Results of a National Survey. **Journal of Pediatric Surgery**, New York, v.35, n.1, p.66-72, Jan. 2000.

SYDORAK, R. M. *et al.* Gastroschisis: Small hole, big cost. **Journal of Pediatric Surgery**, New York v.37, n.12, p.1669-1672, Dec. 2002.

TAKAHASHI, K. *et al.* Isolation and characterization of a 34000-dalton calmodulin- and F-actin-binding protein from chicken gizzard smooth muscle. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v.141, n.1, p.20-26, Nov., 1986.

TAKAHASHI, K. *et al.* A novel troponin T-like protein (calponin) in vascular smooth muscle: interaction with tropomyosin paracrystals. **Journal of Hypertension Suppl.**, London, v.6, n.4, p.S40-3, Dec.1988

TAN, K. H. *et al.* Congenital anterior abdominal wall defects in England and Wales 1987-93: retrospective analysis of OPCS data. **British Medical Journal**, London v.313, n.7062, p.903-906, Oct., 1996.

TANG, J. *et al.* A critical role for calponin 2 in vascular development. **The Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v.281, n.10, p.6664-6672, Mar. 2006.

TANNA, G. L. Di; ROSANO, A.; MASTROIACOVO, P. Prevalence of gastroschisis at birth: Retrospective study. **British Medical Journal**, London, v.325, p.1389-1390, Dec., 2002.

TENIUS, F.P. **Efeitos do uso crônico de dexametasona na cicatrização de feridas cutâneas em ratos..** 65 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade Evangélica do Paraná, Instituto de Pesquisas Médicas, Curitiba, 2003.

TERA, H.; ABERG, C. Tissue strength of structures involved in musculo-aponeurotic layer sutures in laparotomy incisions. **Acta Chirurgica Scandinavica**, Oslo, v.142, n.5, p.349-355, 1976.

THOMPSON, R. J.; JAFFRAY, B. Gastric tonometry after gastroschisis repair. **Archives of Disease in Childhood**, London, v.87, n.5, p.339-340, 2002.

TOGNINI, J. R. F. *et al.* Efeito do diclofenaco de sódio na cicatrização da parede abdominal de ratos. **Acta Cirúrgica Brasileira**, São Paulo, v.13, n.3, p.8-13, July/Sept. 1998.

TOGNINI, J. R. F. *et al.* Estudo biomecânico e morfológico da cicatrização da parede abdominal sob ação de meloxicam. **Acta Cirúrgica Brasileira**, São Paulo, v.15, n.3, p.20-25, jul./set. 2000.

TOJO, T. *et al.* Tracheal replacement with cryopreserved tracheal allograft: experiment in dogs. **Annals of Thoracic Surgery**, New York, v.66, n.1, p.209-213, 1998.

TOMASEK, J. J. *et al.* Myofibroblasts and mechano-regulation of connective tissue remodeling. **Nature Reviews - Molecular Cell Biology**, London, v.3, p.349-363, 2002.

TOMFORD, W. W. *et al.* Frozen musculoskeletal allografts. A study of the clinical incidence and causes of infection associated with their use. **Journal of Bone Joint Surgery Am.**, Boston, v.72, n.8, p.1137-1143, 1990.

TORITSUKA, Y. *et al.* Effect of freeze-drying or gamma-irradiation on remodeling of tendon allograft in a rat model. **Journal of Orthopedics Research**, New York, v.15, n.3, p.294-300, Mar. 1997.

TRIPPEL, S.B. *et al.* Growth factors as therapeutic agents. **Journal of Bone Joint Surgery Am.**, Boston, v.78, n2, p.1272-1286, 1996.

TRUBIAN, P. S. **Nutrição perioperatória e cicatrização de anastomoses colônicas em ratos desnutridos e toxêmicos: tensiometria, densitometria do colágeno e quantificação de angiogênese e miofibroblastos.** 2008, 141f, Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Paraná.

TSAI, W. C. *et al.* Inhibition of tendon cell migration by dexamethasone is correlated with reduced alpha-smooth muscle action gene expression: a potential mechanism of delayed tendon healing. **Journal of Orthopedics Research**, New York, v.21, n.2, p.265-271, 2003.

TSAKAYANNIS, D. E.; ZURAKOWSKI, D.; LILLEHEI, C. W. Respiratory insufficiency at birth: a predictor of mortality for infants with omphalocele. **Journal Pediatric Surgery**, Philadelphia, v.31, n.8, p.1088-1091, Aug. 1996.

TSUKADA, T. *et al.* HHF35 – a muscle actin-specific monoclonal antibody.I. immunocytochemical and biochemical characterization. **American Journal of Pathology**, Bethesda, v.126, n.1, p.51-60, Jan., 1987.

TSUKADA, T. *et al.* HHF35 – a muscle actin-specific monoclonal antibody.II. Reactivity in normal, reactive, and neoplastic human tissues. **American Journal of Pathology**, Bethesda, v.127, n.2, p.389-402, May, 1987.

UGARTE, D. A. *et al.* The use of tissue expanders in the closure of a giant omphalocele. **Journal of Pediatric Surgery**, New York, v.39, n.4, p.613-615, 2004.

VALENTI, J. R. *et al.* Tissue bank applications. **Plastic and Reconstructive Surgery**, Baltimore, v.47, n.1, p.39-46, 1971.

VAN WINKLE, W. JR. The tensile strength of wounds and factors that influence it. **Surgery, Gynecology & Obstetrics**, Chicago, v.129, n.4, p.819-842, Oct. 1969.

VAVRÍK J. *et al.* Changes in abdominal wall after mesh implantation in rats. **Medical and Science Monitoring**, v.6, n.3, p.476-479, 2000.

VILJANTO, J.; RAEKALLIO, J. Wound healing in children as assessed by the CELLSTIC method. **Journal of Pediatric Surgery**, New York, v.11, n.1, p.43-49, Feb.1976.

VILELA, P. C. *et al.* Risk factors for adverse outcome of newborns with gastroschisis in a Brazilian Hospital. **Journal of Pediatric Surgery**, New York, v.36, n.4, p.559-564, Apr. 2001.

VINDIGNI, V. *et al.* Reconstruction of ablated rat rectus abdominis by muscle regeneration. **Plastic and Reconstructive Surgery**, Baltimore, v.114, n.6, p.1510-1515, 2004.

VOE, D.; VOET, J. G.; PRATT, C. W. Proteínas: estrutura tridimensional. In: **Fundamentos de bioquímica**. Porto Alegre: Artes Médicas, 2002.

WALKER, A. P.; HENDERSON, J.; CONDON, R. E. Double-layer prostheses for repair of abdominal wall defects in a rabbit model. **Journal of Surgical Research**, New York, v.55, n.1, p.32-37, July 1993.

WANG S. *et al.* Inhibition of differentiation by transforming growth factor in rhabdomyosarcoma cells. **Chinese Journal of Clinical Oncology**, Suzhou, v.4, n.5, p.327-332, Oct., 2007.

WEBSTER, D. A.; WERNER, F. W. Mechanical and functional properties of implanted freeze-dried flexor tendons. **Clinical Orthopaedics and Related Research**, Philadelphia, n.180, p.301-309, Nov.1983.

WEIR, E. Congenital abdominal wall defects. **Canadian Medical Association Journal**, Ottawa, v.169, n.8, p.234-235, 2003.

WERNER, B. *et al.* Uso prático da imunoistoquímica em patologia cirúrgica. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, São Paulo, v. 41, p.353-64, 2005.

WELCH M.P., ODLAND G.F., CLARK R.A. Temporal relationships of F-actin bundle formation, collagen and fibronectine matrix assembly and fibronectine receptor expression in wound contraction. **Journal of Cell Biology**, New York, v.110, p.133-145, 1990.

WHITE, J. D. *et al.* Myotube formation is delayed but not prevented in myoD-deficient skeletal muscle: studies in regenerating whole muscle grafts of adult mice. **The Journal of Histochemistry & Cytochemistry**, New York, v.48, n.11, p.1531-1543, 2000.

WICKE, C. *et al.* Effects of steroids and retinoids on wound healing. **Archives Of Surgery**, Chicago, v.135, n.11, p.1265-1270, 2000.

WILLIAMS, J. Z.; BARBUL, A. Nutrition and wound healing. **Surgical Clinics of North America**, Philadelphia, v.83, n.3, p.571-596, June 2003.

WILLIAMS, J. K. *et al.* Role of tensor fasciae latae in abdominal wall reconstruction. **Plastic and Reconstructive Surgery**, Baltimore, v.101, n.3, 713-718, Mar. 1998.

WILHELMI, B. J.; BLACKWELL, S. J.; PHILLIPS, L. G. Langer's lines: to use or not to use. **Plastic and Reconstructive Surgery**, Baltimore, v.104, n.1, p.208-214, July 1999.

WILHELMI, B. J.; MOWLAVI, A. Abdominal wall reconstruction. **Emedicine**. Disponível em: <http://www.emedicine.com/plastic/topic441.htm>. Acesso em: 05/12/2004.

WOMACK, C.; GRAY, N. M. Human research tissue banks in the UK National Health Service: laws, ethics, controls and constraints. **British Journal of Biomedicine**, London, v.57, n.3, p.250-253, 2000.

WU, K. C.; JIN, J. P. Calponin in non-muscle cells. **Cell Bioch. Bioph.**, v.52, n.3, Nov., 2008.

YASTER, M. *et al.* Prediction of successful primary closure of congenital abdominal wall defects using intraoperative measurements. **Journal of Pediatric Surgery**, New York, v.24, n.12, p.1217-1220, Dec. 1989.

YUE, X. *et al.* Smooth muscle cell seeding in biodegradable grafts in rats: a new method to enhance the process of arterial wall regeneration. **Surgery**, St. Louis, v.103, n.2, p.206-212, Feb.1988.

ZACCARA, A. *et al.* Bipedicled skin flaps for reconstruction of the abdominal wall in newborn omphalocele. **Journal of Pediatric Surgery**, New York, v.38, n.4, p.613-615, Apr. 2003.

ZHANG, A. Y.; CHANG, J. Tissue engineering of flexor tendons. **Clinics in Plastic Surgery**, Philadelphia, v.30, n.4, p.565-572, 2003.

QUADRO 4 - BANCO DE DADOS DA VARIÁVEL ESCORE SEMIQUANTITATIVO DE ADESÃO

GRUPO	ANIMAL	SCORE DE ADERÊNCIA	ÁREA	ESCORE
CA	1	SEM	0%	0
CA	2	SEM	0,00%	0
CA	3	MINIMA	< 25%	1
CA	4	SEM	0%	0
CA	5	SEM	0%	0
CA	6	SEM	0%	0
CA	7	MINIMA	< 25%	1
CA	8	SEM	0%	0
CA	9	SEM	0%	0
CA	10	SEM	0%	0
EA	1	SEM	0%	0
EA	2	SEM	0%	0
EA	3	SEM	0%	0
EA	4	SEM	0%	0
EA	5	MINIMA	< 25%	1
EA	6	SEM	0%	0
EA	7	SEM	0%	0
EA	8	SEM	0%	0
EA	9	SEM	0%	0
EA	10	SEM	0%	0
CB	1	SEM	0%	0
CB	2	SEM	0%	0
CB	3	MINIMA	< 25%	1
CB	4	MINIMA	< 25%	1
CB	5	MINIMA	< 25%	1
CB	6	SEM	0%	0
CB	7	SEM	0%	0
CB	8	SEM	0%	0
CB	9	SEM	0%	0
CB	10	MINIMA	< 25%	1
EB	1	SEM	0%	0
EB	2	SEM	0%	0
EB	3	MINIMA	< 25%	1
EB	4	SEM	0%	0
EB	5	MINIMA	< 25%	1
EB	6	SEM	0%	0
EB	7	MINIMA	< 25%	1
EB	8	SEM	0%	0
EB	9	SEM	0%	0
EB	10	MINIMA	< 25%	1
CC	1	MINIMA	< 25%	1
CC	2	MINIMA	<25%	1
CC	3	MINIMA	< 25%	1
CC	4	SEM	0%	0
CC	5	SEM	0%	0
CC	6	MINIMA	< 25%	1
CC	7	SEM	0%	0

CC	8	MINIMA	< 25%	1
CC	9	SEM	0%	0
CC	10	SEM	0%	0
EC	1	MINIMA	< 25%	1
EC	2	SEM	0%	0
EC	3	MINIMA	< 25%	1
EC	4	SEM	0%	0
EC	5	SEM	0%	0
EC	6	MINIMA	< 25%	1
EC	7	SEM	0%	0
EC	8	MINIMA	< 25%	1
EC	9	SEM	0%	0
EC	10	SEM	0%	0
CD	1	SEM	0%	0
CD	2	MINIMA	< 25%	1
CD	3	MINIMA	< 25%	1
CD	4	SEM	0%	0
CD	5	SEM	0%	0
CD	6	SEM	0%	0
CD	7	MINIMA	< 25%	1
CD	8	SEM	0%	0
CD	9	SEM	0%	0
CD	10	SEM	0%	0
ED	1	MINIMA	< 25%	1
ED	2	SEM	0%	0
ED	3	SEM	0%	0
ED	4	SEM	0%	0
ED	5	MINIMA	< 25%	1
ED	6	MINIMA	< 25%	1
ED	7	MINIMA	< 25%	1
ED	8	SEM	0%	0
ED	9	SEM	0%	0
ED	10	MINIMA	< 25%	1
ED	11	SEM	0%	0
ED	12	SEM	0%	0
ED	13	SEM	0%	0
ED	14	MINIMA	< 25%	1
ED	15	SEM	0%	0
CE	1	MINIMA	< 25%	1
CE	2	SEM	0%	0
CE	3	MINIMA	< 25%	1
CE	4	MINIMA	< 25%	1
CE	5	MINIMA	< 25%	1
CE	6	SEM	0%	0
CE	7	SEM	0%	0
CE	8	MINIMA	< 25%	1
CE	9	SEM	0%	0
CE	10	MINIMA	< 25%	1
EE	1	SEM	0%	0
EE	2	SEM	0%	0
EE	3	MINIMA	< 25%	1
EE	4	SEM	0%	0

EE	5	MINIMA	< 25%	1
EE	6	MINIMA	< 25%	1
EE	7	MINIMA	< 25%	1
EE	8	MINIMA	< 25%	1
EE	9	SEM	0%	0
EE	10	MINIMA	< 25%	1
EE	11	MINIMA	< 25%	1
EE	12	SEM	0%	0
EE	13	MINIMA	< 25%	1
EE	14	SEM	0%	0
EE	15	SEM	0%	0

FONTE: Dados trabalhados pelo autor.

NOTA: E (grupo experimento); C (grupo controle); A(subgrupo eutanásia no sétimo dia de pós-operatório); B (subgrupo eutanásia no décimo quarto dia de pós-operatório); C (subgrupo eutanásia no vigésimo primeiro dia de pós-operatório); D (subgrupo eutanásia no nonagésimo dia de pós-operatório) e E (subgrupo eutanásia após o centésimo octagésimo dia de pós-operatório).

QUADRO 5 - BANCO DE DADOS DAS VARIÁVEIS HISTOLÓGICAS

GRUPO	ANIMAL	PMN	MMN
CA	1	6,6666666	21,66667
CA	2	5	9,666667
CA	3	9,66667	13,66667
CA	4	11,66667	20
CA	5	15	17
CA	6	10	15
CA	7	9,333333	30
CA	8	7,333333	31,33333
CA	9	8	29,33333
CA	10	8,66667	19,66667
EA	1	19,66667	22,66667
EA	2	34,33333	7,666667
EA	3	27,33333	14,33333
EA	4	30,66667	12,66667
EA	5	34,33333	17,33333
EA	6	39,33333	9
EA	7	28	21,66667
EA	8	26,66667	14,33333
EA	9	18	24,66667
EA	10	21,33333	24
CB	1	5	34,66667
CB	2	3,66667	34,66667
CB	3	3,33333	29,66667
CB	4	17	29,666667
CB	5	2	48,33333
CB	6	3,33333	33,33333
CB	7	4,33333	21
CB	8	4	29
CB	9	22,33333	25
CB	10	22,33333	25
EB	1	0	29,33333
EB	2	40	22
EB	3	0	19
EB	4	33	20,66667
EB	5	4	8
EB	6	0,66667	14
EB	7	13,66667	15,66667
EB	8	0	21,66667
EB	9	37,33333	49
EB	10	10	2,33333
CC	1	3,33333	39
CC	2	1,33333	33,33333
CC	3	2,33333	21
CC	4	2,666667	29
CC	5	4,333333	45
CC	6	1,666667	29,66667
CC	7	1,333333	23,66667
CC	8	1	29,33333

CC	9	2,666667	41
CC	10	0	12,33333
EC	1	0	50
EC	2	0	13,66667
EC	3	0	24,66667
EC	4	0	31,33333
EC	5	0	18,33333
EC	6	1	23,33333
EC	7	1	23,33333
EC	8	1	23,33333
EC	9	0	20,33333
EC	10	0	27,66667
CD	1	0	3
CD	2	0	5,33334
CD	3	0	1,33334
CD	4	0	0,66667
CD	5	0	7,66667
CD	6	0	0,66667
CD	7	0	5,66667
CD	8	0	5,66667
CD	9	0	3
CD	10	0	1,33334
ED	1	0	2,33334
ED	2	6,3	16,666667
ED	3	0	2,66667
ED	4	0	3,33334
ED	5	25,33334	16,66667
ED	6	0	4
ED	7	0	2
ED	8	0	7
ED	9	0	6,66667
ED	10	0	0
ED	11	0	3,33334
ED	12	0	2,33334
ED	13	0	3
ED	14	17,33334	24,66667
ED	15	0	22,66667
CE	1	0	5,33334
CE	2	0	7,33334
CE	3	0	8,66667
CE	4	1	11
CE	5	0	4
CE	6	0	7,66667
CE	7	0,33334	3,66667
CE	8	0	4,66667
CE	9	0,66667	4,66667
CE	10	0	8,66667
EE	1	0	4
EE	2	0	7,66667
EE	3	20	15,66667
EE	4	0	7,33334
EE	5	13,33334	34,66667

EE	6	0	20,33334
EE	7	0	6
EE	8	0	27,33334
EE	9	0	20,66667
EE	10	0	10,33334
EE	11	1,33334	7,33334
EE	12	5,33334	6,16667
EE	13	0	13
EE	14	0	8,33334
EE	15	0	10,33334

FONTE: LACTEC – Dados trabalhados pelo autor.

NOTA: E (grupo experimento); C (grupo controle); A(subgrupo eutanásia no sétimo dia de pós-operatório); B (subgrupo eutanásia no décimo quarto dia de pós-operatório); C (subgrupo eutanásia no vigésimo primeiro dia de pós-operatório); D (subgrupo eutanásia no nonagésimo dia de pós-operatório) e E (subgrupo eutanásia após o centésimo octagésimo dia de pós-operatório); MNM (monomorfonucleares); PNM (polimorfonucleares).

QUADRO 6 - BANCO DE DADOS DAS VARIÁVEIS DA MORFOMETRIA DO COLÁGENO

GRUPO	ANIMAL	COLÁGENO IMATURO TIPO III (%)	COLÁGENO MADURO TIPO I (%)	IMaC(%)	IMaC
CA	1	52,02487	47,97513	0,922158	<1
CA	2	58,38935	41,61065	0,712641	<1
CA	3	58,97414	41,02586	0,695658	<1
CA	4	59,0829	40,9171	0,692537	<1
CA	5	72,6462	27,35285	0,376521	<1
CA	6	65,94171	34,05829	0,516491	<1
CA	7	62,35454	37,64546	0,603732	<1
CA	8	53,78628	46,21497	0,859233	>1
CA	9	62,89712	37,10288	0,589898	<1
CA	10	50,26614	49,73386	0,989411	<1
EA	1	86,54516	13,45376	0,155454	<1
EA	2	94,16587	5,834132	0,061956	<1
EA	3	96,58281	3,417191	0,035381	<1
EA	4	91,28034	8,719659	0,095526	<1
EA	5	94,79335	5,206696	0,054927	<1
EA	6	92,87582	7,124181	0,076707	<1
EA	7	92,89628	7,113719	0,076658	<1
EA	8	98,85235	1,147649	0,01161	>1
EA	9	94,56193	5,438075	0,057508	<1
EA	10	90,31862	9,681383	0,107191	<1
CB	1	74,45229	25,54772	0,343142	<1
CB	2	71,16186	28,83837	0,40525	<1
CB	3	67,06106	32,93837	0,491085	<1
CB	4	56,15959	43,84051	0,78064	<1
CB	5	74,05233	25,95147	0,350448	<1
CB	6	66,62115	33,38135	0,501062	<1
CB	7	52,25723	47,74285	0,913612	<1
CB	8	43,95864	56,04136	1,274866	>1
CB	9	56,05628	43,94472	0,783953	<1
CB	10	50,71357	49,28643	0,971859	<1
EB	1	73,54396	26,45604	0,359731	<1
EB	2	73,19263	26,80737	0,366258	<1
EB	3	65,59036	34,40964	0,524614	<1
EB	4	62,79715	37,21762	0,592664	<1
EB	5	72,94625	27,05375	0,370872	<1
EB	6	78,72968	21,27032	0,292457	<1
EB	7	66,58367	33,41633	0,50187	<1
EB	8	60,2834	39,7166	0,658831	<1
EB	9	67,64948	32,35052	0,478208	<1
EB	10	85,64948	14,35052	0,167604	<1
CC	1	39,80686	60,19314	1,51213	>1
CC	2	41,23735	58,76265	1,424986	>1
CC	3	36,30951	63,69049	1,754221	>1
CC	4	40,35306	59,64694	1,478127	>1

CC	5	51,88233	48,11767	0,927438	<1
CC	6	51,85713	48,14287	0,928375	<1
CC	7	25,91422	74,08578	2,858812	>1
CC	8	39,27213	60,72787	1,546335	>1
CC	9	52,36166	47,63834	0,909794	<1
CC	10	31,18369	68,81633	2,206805	>1
EC	1	66,36963	33,63037	0,506809	<1
EC	2	51,15302	48,84698	0,954919	<1
EC	3	67,36836	32,63164	0,484376	<1
EC	4	58,60627	41,39374	0,705685	<1
EC	5	62,2077	37,7923	0,607518	<1
EC	6	67,9316	32,06836	0,471791	<1
EC	7	69,64139	30,35861	0,435928	<1
EC	8	55,228	44,77205	0,810677	<1
EC	9	65,86888	34,13113	0,518168	<1
EC	10	66,7094	33,29406	0,499117	<1
CD	1	76,1228	23,8772	0,313667	<1
CD	2	77,50903	22,49097	0,290172	<1
CD	3	89,23758	10,76242	0,120604	<1
CD	4	81,0514	18,9486	0,233785	<1
CD	5	79,57985	20,42015	0,265995	<1
CD	6	75,72015	24,27985	0,320652	<1
CD	7	62,75304	37,24696	0,593548	<1
CD	8	81,12516	18,87484	0,232663	<1
CD	9	71,22826	28,77174	0,403937	<1
CD	10	62,66452	37,33548	0,595799	<1
ED	1	41,93862	58,06138	1,384437	>1
ED	2	80,29031	19,70969	0,24548	<1
ED	3	40,62306	59,37694	1,461656	>1
ED	4	44,37856	55,62144	1,25334	>1
ED	5	72,87874	27,12126	0,372142	<1
ED	6	50,85311	49,14689	0,966448	<1
ED	7	28,44217	71,55783	2,515906	>1
ED	8	84,19487	15,80513	0,178767	<1
ED	9	56,73724	43,26276	0,762511	<1
ED	10	84,90277	15,09723	0,177818	<1
ED	11	96,08768	3,912316	0,040716	<1
ED	12	85,64595	14,35405	0,167598	<1
ED	13	85,19629	14,80371	0,17376	<1
ED	14	97,2192	2,780741	0,028603	<1
ED	15	83,5381	16,4619	0,197059	<1
CE	1	41,48364	58,51636	1,410589	>1
CE	2	21,99398	78,00602	3,546699	>1
CE	3	16,94355	83,05645	4,901951	>1
CE	4	20,68546	79,31454	3,834314	>1
CE	5	12,0362	87,9638	1,901992	>1
CE	6	30,44318	69,55682	2,284808	>1
CE	7	23,92339	76,07664	3,180011	>1
CE	8	20,1097	79,8903	3,972725	>1
CE	9	46,24825	53,75175	1,162244	>1
CE	10	30,31772	69,38228	2,288506	>1
EE	1	25,54153	74,45847	2,914508	>1

EE	2	14,65057	85,34943	5,825673	>1
EE	3	39,11204	60,88796	1,556757	>1
EE	4	15,59518	84,40482	5,412238	>1
EE	5	24,53751	75,46249	3,075393	>1
EE	6	20,49924	79,50077	3,87823	>1
EE	7	57,27583	42,72417	0,745937	<1
EE	8	42,8781	57,1219	1,332193	>1
EE	9	19,28466	80,71534	4,185469	>1
EE	10	14,67351	85,32649	5,815002	>1
EE	11	10,26807	89,73193	8,738928	>1
EE	12	19,07896	80,92104	4,241375	>1
EE	13	15,46416	84,5359	5,466569	>1
EE	14	16,98569	83,01431	4,887309	>1
EE	15	27,99369	72,00631	2,572239	>1

FONTE: Dados trabalhados pelo autor.

NOTA: E (grupo experimento); C (grupo controle); A(subgrupo eutanásia no sétimo dia de pós-operatório); B (subgrupo eutanásia no décimo quarto dia de pós-operatório); C (subgrupo eutanásia no vigésimo primeiro dia de pós-operatório); D (subgrupo eutanásia no nonagésimo dia de pós-operatório) e E (subgrupo eutanásia após o centésimo octagésimo dia de pós-operatório).

QUADRO 7 - BANCO DE DADOS DAS VARIÁVEIS TENSIONOMÉTRICAS

GRUPO	ANIMAL	FORÇA MÁXIMA	TENSÃO	FORÇA DE RUPTURA
CA	1	0,50	0,263	0,2
CA	2	0,4	0,219	0,2
CA	3	0,6	0,296	0,2
CA	4	0,5	0,228	0,1
CA	5	0,4	0,188	0,1
CA	6	0,4	0,251	0,2
CA	7	0,6	0,213	0,1
CA	8	0,5	0,264	0,2
CA	9	0,5	0,198	0,2
CA	10	0,6	0,166	0,1
EA	1	0,1	0,066	0,02
EA	2	0,6	0,29	0,1
EA	3	0,6	0,301	0,1
EA	4	0,4	0,295	0,2
EA	5	0,5	0,249	0,2
EA	6	0,6	0,519	0,1
EA	7	0,6	0,311	0,02
EA	8	1	0,499	0,2
EA	9	0,5	0,224	0,01
EA	10	1	0,301	0,1
CB	1	0,8	0,414	0,3
CB	2	1,3	0,671	0,6
CB	3	0,3	0,131	0,1
CB	4	0,3	0,168	0,01
CB	5	0,4	0,222	0,01
CB	6	0,7	0,35	0,3
CB	7	0,5	0,26	0,2
CB	8	0,4	0,221	0,4
CB	9	1,1	0,514	0,7
CB	10	0,3	0,132	0,2
EB	1	1,2	0,614	0,01
EB	2	0,1	0,057	0,01
EB	3	0,11	0,559	0,1
EB	4	0,16	0,814	0,1
EB	5	0,1	0,499	0,2
EB	6	0,15	0,846	0,2
EB	7	0,13	0,822	0,2
EB	8	0,12	0,613	0,1
EB	9	0,11	0,567	0,1
EB	10	0,1	0,554	0,2
CC	1	0,8	0,385	0,1
CC	2	0,7	0,372	0,1
CC	3	0,9	0,435	0,2
CC	4	0,9	0,47	0,01
CC	5	0,6	0,291	0,4
CC	6	0,7	0,373	0,02
CC	7	0,9	0,501	0,2
CC	8	0,6	0,311	0,3

CC	9	0,6	0,287	0,2
CC	10	0,8	0,392	0,4
EC	1	0,5	0,275	0,4
EC	2	1,1	0,556	0,1
EC	3	0,5	0,247	0,3
EC	4	0,9	0,452	0,1
EC	5	0,8	0,388	0,1
EC	6	1,2	0,697	0,4
EC	7	0,4	0,201	0,1
EC	8	0,9	0,455	0,5
EC	9	0,8	0,391	0,3
EC	10	0,8	0,389	0,3
CD	1	1,937	0,097	1,096
CD	2	1,066	0,053	0,479
CD	3	0,562	0,028	0,284
CD	4	0,724	0,036	0,361
CD	5	1,177	0,059	0,432
CD	6	0,795	0,04	0,146
CD	7	0,822	0,041	0,024
CD	8	0,645	0,033	0,302
CD	9	0,714	0,029	0,347
CD	10	0,585	0,041	0,297
ED	1	3,352	0,168	1,15
ED	2	4,223	0,211	0,501
ED	3	1,561	0,078	0,904
ED	4	1,234	0,062	0,0453
ED	5	1,298	0,065	0,576
ED	6	1,887	0,094	0,829
ED	7	0,604	0,03	0,268
ED	8	1,325	0,066	0,521
ED	9	2,158	0,108	1,085
ED	10	1,299	0,065	0,438
ED	11	1,708	0,085	0,588
ED	12	1,251	0,063	0,621
ED	13	1,432	0,072	0,53
ED	14	1,241	0,059	0,618
ED	15	3,341	0,154	1,08
CE	1	2,911	0,146	1,144
CE	2	1,609	0,08	0,805
CE	3	2,381	0,119	1,363
CE	4	3,856	0,193	2,98
CE	5	2,236	0,112	0,918
CE	6	1,155	0,058	0,405
CE	7	1,21	0,061	0,184
CE	8	2,317	0,116	1,031
CE	9	1,234	0,062	0,412
CE	10	0,679	0,034	0,245
EE	1	3,817	0,191	2,103
EE	2	1,861	0,093	0,66
EE	3	1,231	0,062	0,714
EE	4	1,012	0,051	0,37
EE	5	3,815	0,191	1,503

EE	6	1,761	0,088	0,696
EE	7	1,507	0,075	0,549
EE	8	2,017	0,101	1,438
EE	9	1,432	0,072	0,53
EE	10	2,314	0,016	1,14
EE	11	1,863	0,093	0,707
EE	12	1,481	0,074	0,535
EE	13	2,299	0,115	0,439
EE	14	1,341	0,067	0,495
EE	15	1,065	0,053	0,751

FONTE: LACTEC – Dados trabalhados pelo autor.

NOTA: E (grupo experimento); C (grupo controle); A(subgrupo eutanásia no sétimo dia de pós-operatório); B (subgrupo eutanásia no décimo quarto dia de pós-operatório); C (subgrupo eutanásia no vigésimo primeiro dia de pós-operatório); D (subgrupo eutanásia no nonagésimo dia de pós-operatório) e E (subgrupo eutanásia após o centésimo octagésimo dia de pós-operatório).

QUADRO 8 - BANCO DE DADOS DAS VARIÁVEIS IMUNOHISTOQUÍMICAS ACTÍNICAS

GRUPO	ANIMAL	ACTINA SARCOMÉRICA	CALPONINA	HHF35
CA	1	2289,93	8674,58	8793,95
CA	2	2670,128	12304,38	8527,533
CA	3	2046,563	9143,53	10697,65
CA	4	4493,053	8501,65	10244,13
CA	5	2929,288	11351,89	14475,18
CA	6	2781,347	6775,73	9922,988
CA	7	3029,79	14074,94	4415,108
CA	8	3611,005	11010,79	11201,29
CA	9	2653,958	13178,38	9693,274
CA	10	6741,425	7924,81	6595,062
EA	1	7358,719	12346,93	12203,08
EA	2	7221,269	12130,48	11688,2
EA	3	5330,415	8026,73	10690,21
EA	4	4403,373	10997,30	12423,64
EA	5	6072,434	9501,24	11646,58
EA	6	2903,531	6772,75	12137,62
EA	7	2507,534	8679,67	11118,67
EA	8	9910,636	6751,14	10700,29
EA	9	5932,464	8738,70	9263,047
EA	10	4446,992	9449,30	10379,41
CB	1	6152,85425	15349,91	4945,482
CB	2	7786,5595	13935,27	3781,463
CB	3	6866,8265	14980,70	1713,449
CB	4	6463,452	12975,96	1276,757
CB	5	11731,48	15657,46	4202,541
CB	6	10240,365	11391,23	4097,794
CB	7	7268,602	8513,39	7639,684
CB	8	13057,225	10235,45	8502,452
CB	9	14675,885	16422,28	6146,138
CB	10	12819,97	20513,19	2880,91
EB	1	8440,944	5238,699829	4718,1
EB	2	5338,284	2778,580766	4510,451
EB	3	6142,478	6195,806458	2590,657
EB	4	11241,37	4312,759	3503,429
EB	5	10884,34	8398,689	6805,847
EB	6	8830,155	3264,797535	2868,862
EB	7	11717,6	2344,327589	4711,092
EB	8	12804,52	2352,503318	4684,291
EB	9	13875,54	3068,33556	6635,449
EB	10	6522,031	5153,75	5697,398
CC	1	7941,958	8707,64	6034,506
CC	2	10682,7155	8665,30	8767,567
CC	3	6642,948	10044,27	2421,321
CC	4	5085,882	9702,00	11367,5
CC	5	10145,578	13252,83	7728,038
CC	6	8106,701	11186,76	8528,026
CC	7	2858,78	9921,10	5.999.467
CC	8	11035,9245	1187,44	11355,09
CC	9	4392,9788	13271,39	11045,03

CC	10	25065,48	11307,39	11355,09
EC	1	4899,709	4548,92	3551,375
EC	2	8249,981	6869,39	3246,295
EC	3	5683,627	5340,13	3735,851
EC	4	2190,957	4979,08	3248,078
EC	5	4887,822	8717,11	9357,394
EC	6	3096121	5599,60	3646,165
EC	7	4425,374	6803,76	10610,85
EC	8	2431,935	4469,33	6611,967
EC	9	2513,434	7309,54	7382,694
EC	10	4222,663	7947,25	8873,248
CD	1	3162,079	3285,42	1810,881
CD	2	2505,567	4362,58	1040,339
CD	3	8728,788	2636,75	6676,271
CD	4	6761,851	2889,58	6038,891
CD	5	6240,988	3157,84	1609,501
CD	6	4250,611	3305,92	1931,671
CD	7	4833,297	2346,97	2841,528
CD	8	6855,762	7011,41	5361,52
CD	9	2901,994	4979,74	3638,727
CD	10	2449,505	4876,36	1453,671
ED	1	4067,247	3919,53	4522,253
ED	2	7152,483	5677,79	2389,325
ED	3	6928,113	8323,70	6984,052
ED	4	9258,629	2353,24	5059,106
ED	5	4665,727	4494,53	4145,631
ED	6	6438,743	7815,02	4470,617
ED	7	5259,03	9953,84	4201,804
ED	8	4138,98	3090,90	6967,27
ED	9	5115,204	5932,77	4757,688
ED	10	6878,198	4699,60	4683,615
ED	11	7839,796	10929,32	6840,518
ED	12	4978,247	5754,94	4437,792
ED	13	9676,675	4014,32	7439,615
ED	14	4141,193	11,225,63	6401,008
ED	15	10077,84	5939,04	6619,451
CE	1	9055,525	4790,24	5657,257
CE	2	7112,771	4746,38	3349,321
CE	3	3725,647	7900,34	5211,281
CE	4	6085,281	5236,67	6241,849
CE	5	8618,508	9389,05	3394,686
CE	6	3468,569	4744,23	4265,979
CE	7	4416,338	3669,34	2328,894
CE	8	4229,22	3510,56	5313,609
CE	9	2389,079	2559,71	6310,45
CE	10	7951,899	4709,31	3149,785
EE	1	8728,113	5374,85	6869,47
EE	2	5103,704	4587,54	2449,874
EE	3	8150,297	4174,76	5187,986
EE	4	4874,97	5160,57	5223,517
EE	5	5437,189	5409,77	7005,567
EE	6	4034,601	5962,02	3887,378

EE	7	3750,604	11615,52	7759,573
EE	8	9540,306	7005,48	4273,172
EE	9	3375,999	5715,41	6862,031
EE	10	8203,948	770,91	6499,525
EE	11	8022,486	6111,59	6909,592
EE	12	7606,14	8459,79	4819,528
EE	13	8023,559	7840,78	3306,66
EE	14	7081,054	7778,01	7191,025
EE	15	6328,917	8606,58	5851,814

FONTE: Dados trabalhados pelo autor.

NOTA: E (grupo experimento); C (grupo controle); A(subgrupo eutanásia no sétimo dia de pós-operatório); B (subgrupo eutanásia no décimo quarto dia de pós-operatório); C (subgrupo eutanásia no vigésimo primeiro dia de pós-operatório); D (subgrupo eutanásia no nonagésimo dia de pós-operatório) e E (subgrupo eutanásia após o centésimo octagésimo dia de pós-operatório).

QUADRO 9 – CORRELAÇÃO DE SPEARMAN EM TODAS AS VARIÁVEIS DO ESTUDO

Grupo CA				
Variáveis	n	Coef de correlação de Spearman	Valor de p	
Actina sarcomérica x Calponina	10	-0,22	0,533	
Actina sarcomérica x HHF35	10	-0,09	0,803	
Actina sarcomérica x Colágeno III	10	-0,14	0,701	
Actina sarcomérica x Colágeno I	10	0,14	0,701	
Actina sarcomérica x Índice mat colag	10	0,14	0,701	
Actina sarcomérica x Força máxima	10	0,13	0,710	
Actina sarcomérica x Tensão	10	-0,44	0,200	
Actina sarcomérica x Força de ruptura	10	-0,71	0,021	
Actina sarcomérica x Polimorfismos	10	0,26	0,467	
Actina sarcomérica x Monomorfismos	10	0,33	0,347	
Calponina x HHF35	10	-0,15	0,676	
Calponina x Colágeno III	10	0,26	0,467	
Calponina x Colágeno I	10	-0,26	0,467	
Calponina x Índice mat colag	10	-0,26	0,467	
Calponina x Força máxima	10	0,04	0,902	
Calponina x Tensão	10	-0,22	0,533	
Calponina x Força de ruptura	10	0,00	1,000	
Calponina x Polimorfismos	10	-0,27	0,446	
Calponina x Monomorfismos	10	0,30	0,405	
HHF35 x Colágeno III	10	0,36	0,310	
HHF35 x Colágeno I	10	-0,36	0,310	
HHF35 x Índice mat colag	10	-0,36	0,310	
HHF35 x Força máxima	10	-0,36	0,307	
HHF35 x Tensão	10	0,37	0,293	
HHF35 x Força de ruptura	10	0,14	0,695	
HHF35 x Polimorfismos	10	0,47	0,174	
HHF35 x Monomorfismos	10	-0,08	0,829	
Colágeno III x Colágeno I	10	-1,00		
Colágeno III x Índice mat colag	10	-1,00		
Colágeno III x Força máxima	10	-0,45	0,193	
Colágeno III x Tensão	10	-0,21	0,556	
Colágeno III x Força de ruptura	10	-0,14	0,695	
Colágeno III x Polimorfismos	10	0,66	0,038	
Colágeno III x Monomorfismos	10	-0,12	0,751	
Colágeno I x Índice mat colag	10	1,00		
Colágeno I x Força máxima	10	0,45	0,193	
Colágeno I x Tensão	10	0,21	0,556	
Colágeno I x Força de ruptura	10	0,14	0,695	
Colágeno I x Polimorfismos	10	-0,66	0,038	
Colágeno I x Monomorfismos	10	0,12	0,751	

Índice mat colag x Força máxima	10	0,45	0,193
Índice mat colag x Tensão	10	0,21	0,556
Índice mat colag x Força de ruptura	10	0,14	0,695
Índice mat colag x Polimorfismos	10	-0,66	0,038
Índice mat colag x Monomorfismos	10	0,12	0,751
Força máxima x Tensão	10	0,04	0,902
Força máxima x Força de ruptura	10	-0,26	0,462
Força máxima x Polimorfismos	10	-0,04	0,902
Força máxima x Monomorfismos	10	0,36	0,307
Tensão x Força de ruptura	10	0,64	0,046
Tensão x Polimorfismos	10	-0,16	0,651
Tensão x Monomorfismos	10	-0,02	0,960
Força de ruptura x Polimorfismos	10	-0,57	0,086
Força de ruptura x Monomorfismos	10	-0,14	0,695
Polimorfismos x Monomorfismos	10	-0,18	0,627
GRUPO EA			
Variáveis	n	Coef de correlação de Spearman	Valor de p
Actina sarcomérica x Calponina	10	0,24	0,511
Actina sarcomérica x HHF35	10	-0,04	0,907
Actina sarcomérica x Colágeno III	10	0,33	0,347
Actina sarcomérica x Colágeno I	10	-0,33	0,347
Actina sarcomérica x Índice mat colag	10	-0,33	0,347
Actina sarcomérica x Força máxima	10	-0,06	0,863
Actina sarcomérica x Tensão	10	-0,45	0,192
Actina sarcomérica x Força de ruptura	10	0,17	0,648
Actina sarcomérica x Polimorfismos	10	-0,33	0,354
Actina sarcomérica x Monomorfismos	10	0,04	0,920
Calponina x HHF35	10	0,47	0,174
Calponina x Colágeno III	10	-0,56	0,090
Calponina x Colágeno I	10	0,56	0,090
Calponina x Índice mat colag	10	0,56	0,090
Calponina x Força máxima	10	-0,64	0,045
Calponina x Tensão	10	-0,80	0,005
Calponina x Força de ruptura	10	-0,11	0,766
Calponina x Polimorfismos	10	-0,05	0,881
Calponina x Monomorfismos	10	0,08	0,828
HHF35 x Colágeno III	10	-0,47	0,174
HHF35 x Colágeno I	10	0,47	0,174
HHF35 x Índice mat colag	10	0,47	0,174
HHF35 x Força máxima	10	-0,53	0,111
HHF35 x Tensão	10	-0,09	0,815
HHF35 x Força de ruptura	10	0,30	0,402
HHF35 x Polimorfismos	10	0,53	0,111
HHF35 x Monomorfismos	10	-0,57	0,084

Colágeno III	x	Colágeno I	10	-1,00	
Colágeno III	x	Índice mat colag	10	-1,00	
Colágeno III	x	Força máxima	10	0,34	0,337
Colágeno III	x	Tensão	10	0,21	0,567
Colágeno III	x	Força de ruptura	10	0,31	0,391
Colágeno III	x	Polimorfismos	10	0,09	0,802
Colágeno III	x	Monomorfismos	10	-0,18	0,614
Colágeno I	x	Índice mat colag	10	1,00	
Colágeno I	x	Força máxima	10	-0,34	0,337
Colágeno I	x	Tensão	10	-0,21	0,567
Colágeno I	x	Força de ruptura	10	-0,31	0,391
Colágeno I	x	Polimorfismos	10	-0,09	0,802
Colágeno I	x	Monomorfismos	10	0,18	0,614
Índice mat colag	x	Força máxima	10	-0,34	0,337
Índice mat colag	x	Tensão	10	-0,21	0,567
Índice mat colag	x	Força de ruptura	10	-0,31	0,391
Índice mat colag	x	Polimorfismos	10	-0,09	0,802
Índice mat colag	x	Monomorfismos	10	0,18	0,614
Força máxima	x	Tensão	10	0,74	0,015
Força máxima	x	Força de ruptura	10	0,19	0,603
Força máxima	x	Polimorfismos	10	0,06	0,862
Força máxima	x	Monomorfismos	10	-0,13	0,728
Tensão	x	Força de ruptura	10	0,30	0,400
Tensão	x	Polimorfismos	10	0,39	0,265
Tensão	x	Monomorfismos	10	-0,41	0,245
Força de ruptura	x	Polimorfismos	10	0,51	0,135
Força de ruptura	x	Monomorfismos	10	-0,55	0,103
Polimorfismos	x	Monomorfismos	10	-0,81	0,004
GRUPO CB					
Variáveis			n	Coef de correlação de Spearman	Valor de p
Actina sarcomérica	x	Calponina	10	0,26	0,467
Actina sarcomérica	x	HHF35	10	0,42	0,229
Actina sarcomérica	x	Colágeno III	10	-0,55	0,098
Actina sarcomérica	x	Colágeno I	10	0,55	0,098
Actina sarcomérica	x	Índice mat colag	10	0,55	0,098
Actina sarcomérica	x	Força máxima	10	0,12	0,748
Actina sarcomérica	x	Tensão	10	0,09	0,803
Actina sarcomérica	x	Força de ruptura	10	0,45	0,196
Actina sarcomérica	x	Polimorfismos	10	0,12	0,737
Actina sarcomérica	x	Monomorfismos	10	-0,32	0,362
Calponina	x	HHF35	10	-0,28	0,425
Calponina	x	Colágeno III	10	0,25	0,489
Calponina	x	Colágeno I	10	-0,25	0,489
Calponina	x	Índice mat colag	10	-0,25	0,489

Calponina	x	Força máxima	10	-0,04	0,906
Calponina	x	Tensão	10	-0,03	0,934
Calponina	x	Força de ruptura	10	-0,01	0,973
Calponina	x	Polimorfismos	10	0,31	0,382
Calponina	x	Monomorfismos	10	0,16	0,662
HHF35	x	Colágeno III	10	-0,27	0,446
HHF35	x	Colágeno I	10	0,27	0,446
HHF35	x	Índice mat colag	10	0,27	0,446
HHF35	x	Força máxima	10	0,47	0,166
HHF35	x	Tensão	10	0,43	0,214
HHF35	x	Força de ruptura	10	0,51	0,129
HHF35	x	Polimorfismos	10	0,03	0,933
HHF35	x	Monomorfismos	10	-0,25	0,486
Colágeno III	x	Colágeno I	10	-1,00	
Colágeno III	x	Índice mat colag	10	-1,00	
Colágeno III	x	Força máxima	10	0,33	0,358
Colágeno III	x	Tensão	10	0,35	0,328
Colágeno III	x	Força de ruptura	10	-0,17	0,636
Colágeno III	x	Polimorfismos	10	-0,48	0,165
Colágeno III	x	Monomorfismos	10	0,87	0,001
Colágeno I	x	Índice mat colag	10	1,00	
Colágeno I	x	Força máxima	10	-0,33	0,358
Colágeno I	x	Tensão	10	-0,35	0,328
Colágeno I	x	Força de ruptura	10	0,17	0,636
Colágeno I	x	Polimorfismos	10	0,48	0,165
Colágeno I	x	Monomorfismos	10	-0,87	0,001
Índice mat colag	x	Força máxima	10	-0,33	0,358
Índice mat colag	x	Tensão	10	-0,35	0,328
Índice mat colag	x	Força de ruptura	10	0,17	0,636
Índice mat colag	x	Polimorfismos	10	0,48	0,165
Índice mat colag	x	Monomorfismos	10	-0,87	0,001
Força máxima	x	Tensão	10	0,98	<0,001
Força máxima	x	Força de ruptura	10	0,78	0,008
Força máxima	x	Polimorfismos	10	-0,01	0,986
Força máxima	x	Monomorfismos	10	0,22	0,536
Tensão	x	Força de ruptura	10	0,71	0,022
Tensão	x	Polimorfismos	10	0,04	0,920
Tensão	x	Monomorfismos	10	0,24	0,497
Força de ruptura	x	Polimorfismos	10	0,26	0,471
Força de ruptura	x	Monomorfismos	10	-0,15	0,684
Polimorfismos	x	Monomorfismos	10	-0,65	0,042
GRUPO CB					
Variáveis		n		Coef de correlação de Spearman	Valor de p
Actina sarcomérica	x	Calponina	10	0,26	0,467

Actina sarcomérica	x	HHF35	10	0,42	0,229
Actina sarcomérica	x	Colágeno III	10	-0,55	0,098
Actina sarcomérica	x	Colágeno I	10	0,55	0,098
Actina sarcomérica	x	Índice mat colag	10	0,55	0,098
Actina sarcomérica	x	Força máxima	10	0,12	0,748
Actina sarcomérica	x	Tensão	10	0,09	0,803
Actina sarcomérica	x	Força de ruptura	10	0,45	0,196
Actina sarcomérica	x	Polimorfismos	10	0,12	0,737
Actina sarcomérica	x	Monomorfismos	10	-0,32	0,362
Calponina	x	HHF35	10	-0,28	0,425
Calponina	x	Colágeno III	10	0,25	0,489
Calponina	x	Colágeno I	10	-0,25	0,489
Calponina	x	Índice mat colag	10	-0,25	0,489
Calponina	x	Força máxima	10	-0,04	0,906
Calponina	x	Tensão	10	-0,03	0,934
Calponina	x	Força de ruptura	10	-0,01	0,973
Calponina	x	Polimorfismos	10	0,31	0,382
Calponina	x	Monomorfismos	10	0,16	0,662
HHF35	x	Colágeno III	10	-0,27	0,446
HHF35	x	Colágeno I	10	0,27	0,446
HHF35	x	Índice mat colag	10	0,27	0,446
HHF35	x	Força máxima	10	0,47	0,166
HHF35	x	Tensão	10	0,43	0,214
HHF35	x	Força de ruptura	10	0,51	0,129
HHF35	x	Polimorfismos	10	0,03	0,933
HHF35	x	Monomorfismos	10	-0,25	0,486
Colágeno III	x	Colágeno I	10	-1,00	
Colágeno III	x	Índice mat colag	10	-1,00	
Colágeno III	x	Força máxima	10	0,33	0,358
Colágeno III	x	Tensão	10	0,35	0,328
Colágeno III	x	Força de ruptura	10	-0,17	0,636
Colágeno III	x	Polimorfismos	10	-0,48	0,165
Colágeno III	x	Monomorfismos	10	0,87	0,001
Colágeno I	x	Índice mat colag	10	1,00	
Colágeno I	x	Força máxima	10	-0,33	0,358
Colágeno I	x	Tensão	10	-0,35	0,328
Colágeno I	x	Força de ruptura	10	0,17	0,636
Colágeno I	x	Polimorfismos	10	0,48	0,165
Colágeno I	x	Monomorfismos	10	-0,87	0,001
Índice mat colag	x	Força máxima	10	-0,33	0,358
Índice mat colag	x	Tensão	10	-0,35	0,328
Índice mat colag	x	Força de ruptura	10	0,17	0,636
Índice mat colag	x	Polimorfismos	10	0,48	0,165
Índice mat colag	x	Monomorfismos	10	-0,87	0,001
Força máxima	x	Tensão	10	0,98	<0,001

Força máxima x Força de ruptura	10	0,78	0,008
Força máxima x Polimorfismos	10	-0,01	0,986
Força máxima x Monomorfismos	10	0,22	0,536
Tensão x Força de ruptura	10	0,71	0,022
Tensão x Polimorfismos	10	0,04	0,920
Tensão x Monomorfismos	10	0,24	0,497
Força de ruptura x Polimorfismos	10	0,26	0,471
Força de ruptura x Monomorfismos	10	-0,15	0,684
Polimorfismos x Monomorfismos	10	-0,65	0,042
GRUPO EB			
Variáveis	n	Coef de correlação de Spearman	Valor de p
Actina sarcomérica x Calponina	10	-0,43	0,214
Actina sarcomérica x HHF35	10	0,36	0,310
Actina sarcomérica x Colágeno III	10	-0,50	0,138
Actina sarcomérica x Colágeno I	10	0,50	0,138
Actina sarcomérica x Índice mat colag	10	0,50	0,138
Actina sarcomérica x Força máxima	10	0,30	0,397
Actina sarcomérica x Tensão	10	0,45	0,187
Actina sarcomérica x Força de ruptura	10	0,23	0,516
Actina sarcomérica x Polimorfismos	10	0,09	0,800
Actina sarcomérica x Monomorfismos	10	0,22	0,533
Calponina x HHF35	10	0,13	0,726
Calponina x Colágeno III	10	0,27	0,446
Calponina x Colágeno I	10	-0,27	0,446
Calponina x Índice mat colag	10	-0,27	0,446
Calponina x Força máxima	10	-0,14	0,709
Calponina x Tensão	10	-0,33	0,347
Calponina x Força de ruptura	10	0,05	0,887
Calponina x Polimorfismos	10	-0,39	0,270
Calponina x Monomorfismos	10	-0,31	0,385
HHF35 x Colágeno III	10	0,27	0,446
HHF35 x Colágeno I	10	-0,27	0,446
HHF35 x Índice mat colag	10	-0,27	0,446
HHF35 x Força máxima	10	-0,35	0,320
HHF35 x Tensão	10	-0,35	0,328
HHF35 x Força de ruptura	10	0,21	0,565
HHF35 x Polimorfismos	10	0,20	0,575
HHF35 x Monomorfismos	10	-0,02	0,960
Colágeno III x Colágeno I	10	-1,00	
Colágeno III x Índice mat colag	10	-1,00	
Colágeno III x Força máxima	10	-0,20	0,574
Colágeno III x Tensão	10	-0,15	0,676
Colágeno III x Força de ruptura	10	0,21	0,565
Colágeno III x Polimorfismos	10	0,08	0,827

Colágeno III	x	Monomorfismos	10	-0,31	0,385
Colágeno I	x	Índice mat colag	10	1,00	
Colágeno I	x	Força máxima	10	0,20	0,574
Colágeno I	x	Tensão	10	0,15	0,676
Colágeno I	x	Força de ruptura	10	-0,21	0,565
Colágeno I	x	Polimorfismos	10	-0,08	0,827
Colágeno I	x	Monomorfismos	10	0,31	0,385
Índice mat colag	x	Força máxima	10	0,20	0,574
Índice mat colag	x	Tensão	10	0,15	0,676
Índice mat colag	x	Força de ruptura	10	-0,21	0,565
Índice mat colag	x	Polimorfismos	10	-0,08	0,827
Índice mat colag	x	Monomorfismos	10	0,31	0,385
Força máxima	x	Tensão	10	0,87	0,001
Força máxima	x	Força de ruptura	10	-0,20	0,584
Força máxima	x	Polimorfismos	10	-0,32	0,361
Força máxima	x	Monomorfismos	10	0,31	0,387
Tensão	x	Força de ruptura	10	0,22	0,540
Tensão	x	Polimorfismos	10	-0,23	0,528
Tensão	x	Monomorfismos	10	0,02	0,960
Força de ruptura	x	Polimorfismos	10	-0,04	0,914
Força de ruptura	x	Monomorfismos	10	-0,86	0,002
Polimorfismos	x	Monomorfismos	10	0,17	0,647
GRUPO CC					
Variáveis			n	Coef de correlação de Spearman	Valor de p
Actina sarcomérica	x	Calponina	10	-0,20	0,580
Actina sarcomérica	x	HHF35	10	0,36	0,300
Actina sarcomérica	x	Colágeno III	10	-0,04	0,907
Actina sarcomérica	x	Colágeno I	10	0,04	0,907
Actina sarcomérica	x	Índice mat colag	10	0,04	0,907
Actina sarcomérica	x	Força máxima	10	-0,43	0,221
Actina sarcomérica	x	Tensão	10	-0,35	0,328
Actina sarcomérica	x	Força de ruptura	10	0,41	0,235
Actina sarcomérica	x	Polimorfismos	10	-0,49	0,154
Actina sarcomérica	x	Monomorfismos	10	-0,05	0,881
Calponina	x	HHF35	10	-0,10	0,789
Calponina	x	Colágeno III	10	0,37	0,293
Calponina	x	Colágeno I	10	-0,37	0,293
Calponina	x	Índice mat colag	10	-0,37	0,293
Calponina	x	Força máxima	10	-0,19	0,592
Calponina	x	Tensão	10	-0,25	0,489
Calponina	x	Força de ruptura	10	0,35	0,319
Calponina	x	Polimorfismos	10	0,32	0,364
Calponina	x	Monomorfismos	10	0,16	0,651
HHF35	x	Colágeno III	10	0,20	0,578

HHF35	x	Colágeno I	10	-0,20	0,578
HHF35	x	Índice mat colag	10	-0,20	0,578
HHF35	x	Força máxima	10	-0,28	0,435
HHF35	x	Tensão	10	-0,21	0,555
HHF35	x	Força de ruptura	10	-0,05	0,885
HHF35	x	Polimorfismos	10	-0,31	0,382
HHF35	x	Monomorfismos	10	-0,05	0,881
Colágeno III	x	Colágeno I	10	-1,00	
Colágeno III	x	Índice mat colag	10	-1,00	
Colágeno III	x	Força máxima	10	-0,67	0,034
Colágeno III	x	Tensão	10	-0,76	0,011
Colágeno III	x	Força de ruptura	10	-0,22	0,537
Colágeno III	x	Polimorfismos	10	0,55	0,097
Colágeno III	x	Monomorfismos	10	0,84	0,002
Colágeno I	x	Índice mat colag	10	1,00	
Colágeno I	x	Força máxima	10	0,67	0,034
Colágeno I	x	Tensão	10	0,76	0,011
Colágeno I	x	Força de ruptura	10	0,22	0,537
Colágeno I	x	Polimorfismos	10	-0,55	0,097
Colágeno I	x	Monomorfismos	10	-0,84	0,002
Índice mat colag	x	Força máxima	10	0,67	0,034
Índice mat colag	x	Tensão	10	0,76	0,011
Índice mat colag	x	Força de ruptura	10	0,22	0,537
Índice mat colag	x	Polimorfismos	10	-0,55	0,097
Índice mat colag	x	Monomorfismos	10	-0,84	0,002
Força máxima	x	Tensão	10	0,97	<0,001
Força máxima	x	Força de ruptura	10	-0,37	0,289
Força máxima	x	Polimorfismos	10	-0,06	0,863
Força máxima	x	Monomorfismos	10	-0,71	0,022
Tensão	x	Força de ruptura	10	-0,31	0,385
Tensão	x	Polimorfismos	10	-0,19	0,602
Tensão	x	Monomorfismos	10	-0,77	0,009
Força de ruptura	x	Polimorfismos	10	-0,22	0,548
Força de ruptura	x	Monomorfismos	10	-0,07	0,852
Polimorfismos	x	Monomorfismos	10	0,64	0,044
GRUPO EC					
Variáveis			n	Coef de correlação de Spearman	Valor de p
Actina sarcomérica	x	Calponina	10	0,14	0,701
Actina sarcomérica	x	HHF35	10	-0,26	0,467
Actina sarcomérica	x	Colágeno III	10	0,32	0,365
Actina sarcomérica	x	Colágeno I	10	-0,32	0,365
Actina sarcomérica	x	Índice mat colag	10	-0,32	0,365
Actina sarcomérica	x	Força máxima	10	0,10	0,773
Actina sarcomérica	x	Tensão	10	0,07	0,855

Actina sarcomérica	x	Força de ruptura	10	0,06	0,875
Actina sarcomérica	x	Polimorfismos	10	0,04	0,917
Actina sarcomérica	x	Monomorfismos	10	-0,25	0,483
Calponina	x	HHF35	10	0,49	0,150
Calponina	x	Colágeno III	10	0,09	0,803
Calponina	x	Colágeno I	10	-0,09	0,803
Calponina	x	Índice mat colag	10	-0,09	0,803
Calponina	x	Força máxima	10	-0,04	0,906
Calponina	x	Tensão	10	-0,09	0,803
Calponina	x	Força de ruptura	10	-0,53	0,112
Calponina	x	Polimorfismos	10	-0,34	0,334
Calponina	x	Monomorfismos	10	-0,55	0,102
HHF35	x	Colágeno III	10	0,45	0,187
HHF35	x	Colágeno I	10	-0,45	0,187
HHF35	x	Índice mat colag	10	-0,45	0,187
HHF35	x	Força máxima	10	-0,54	0,109
HHF35	x	Tensão	10	-0,54	0,108
HHF35	x	Força de ruptura	10	-0,10	0,780
HHF35	x	Polimorfismos	10	0,27	0,458
HHF35	x	Monomorfismos	10	-0,19	0,599
Colágeno III	x	Colágeno I	10	-1,00	
Colágeno III	x	Índice mat colag	10	-1,00	
Colágeno III	x	Força máxima	10	-0,51	0,135
Colágeno III	x	Tensão	10	-0,50	0,138
Colágeno III	x	Força de ruptura	10	0,13	0,726
Colágeno III	x	Polimorfismos	10	0,34	0,334
Colágeno III	x	Monomorfismos	10	0,31	0,379
Colágeno I	x	Índice mat colag	10	1,00	
Colágeno I	x	Força máxima	10	0,51	0,135
Colágeno I	x	Tensão	10	0,50	0,138
Colágeno I	x	Força de ruptura	10	-0,13	0,726
Colágeno I	x	Polimorfismos	10	-0,34	0,334
Colágeno I	x	Monomorfismos	10	-0,31	0,379
Índice mat colag	x	Força máxima	10	0,51	0,135
Índice mat colag	x	Tensão	10	0,50	0,138
Índice mat colag	x	Força de ruptura	10	-0,13	0,726
Índice mat colag	x	Polimorfismos	10	-0,34	0,334
Índice mat colag	x	Monomorfismos	10	-0,31	0,379
Força máxima	x	Tensão	10	0,98	<0,001
Força máxima	x	Força de ruptura	10	0,13	0,721
Força máxima	x	Polimorfismos	10	0,15	0,669
Força máxima	x	Monomorfismos	10	-0,33	0,360
Tensão	x	Força de ruptura	10	0,24	0,513
Tensão	x	Polimorfismos	10	0,19	0,599
Tensão	x	Monomorfismos	10	-0,31	0,379

Força de ruptura x Polimorfismos	10	0,36	0,309
Força de ruptura x Monomorfismos	10	0,33	0,355
Polimorfismos x Monomorfismos	10	-0,12	0,751
GRUPO CD			
Variáveis	n	Coef de correlação de Spearman	Valor de p
Actina sarcomérica x Calponina	10	-0,43	0,214
Actina sarcomérica x HHF35	10	0,78	0,008
Actina sarcomérica x Colágeno III	10	0,79	0,006
Actina sarcomérica x Colágeno I	10	-0,79	0,006
Actina sarcomérica x Índice mat colag	10	-0,79	0,006
Actina sarcomérica x Força máxima	10	-0,25	0,489
Actina sarcomérica x Tensão	10	-0,46	0,179
Actina sarcomérica x Força de ruptura	10	-0,24	0,511
Actina sarcomérica x Polimorfismos	10		
Actina sarcomérica x Monomorfismos	10	0,07	0,853
Calponina x HHF35	10	-0,26	0,467
Calponina x Colágeno III	10	-0,15	0,676
Calponina x Colágeno I	10	0,15	0,676
Calponina x Índice mat colag	10	0,15	0,676
Calponina x Força máxima	10	-0,22	0,533
Calponina x Tensão	10	-0,12	0,738
Calponina x Força de ruptura	10	0,22	0,533
Calponina x Polimorfismos	10		
Calponina x Monomorfismos	10	0,07	0,853
HHF35 x Colágeno III	10	0,53	0,117
HHF35 x Colágeno I	10	-0,53	0,117
HHF35 x Índice mat colag	10	-0,53	0,117
HHF35 x Força máxima	10	-0,54	0,108
HHF35 x Tensão	10	-0,81	0,005
HHF35 x Força de ruptura	10	-0,37	0,293
HHF35 x Polimorfismos	10		
HHF35 x Monomorfismos	10	-0,28	0,429
Colágeno III x Colágeno I	10	-1,00	
Colágeno III x Índice mat colag	10	-1,00	
Colágeno III x Força máxima	10	-0,15	0,676
Colágeno III x Tensão	10	-0,33	0,354
Colágeno III x Força de ruptura	10	0,25	0,489
Colágeno III x Polimorfismos	10		
Colágeno III x Monomorfismos	10	0,04	0,906
Colágeno I x Índice mat colag	10	1,00	
Colágeno I x Força máxima	10	0,15	0,676
Colágeno I x Tensão	10	0,33	0,354
Colágeno I x Força de ruptura	10	-0,25	0,489
Colágeno I x Polimorfismos	10		

Colágeno I x Monomorfismos	10	-0,04	0,906
Índice mat colag x Força máxima	10	0,15	0,676
Índice mat colag x Tensão	10	0,33	0,354
Índice mat colag x Força de ruptura	10	-0,25	0,489
Índice mat colag x Polimorfismos	10		
Índice mat colag x Monomorfismos	10	-0,04	0,906
Força máxima x Tensão	10	0,84	0,002
Força máxima x Força de ruptura	10	0,55	0,098
Força máxima x Polimorfismos	10		
Força máxima x Monomorfismos	10	0,40	0,254
Tensão x Força de ruptura	10	0,51	0,132
Tensão x Polimorfismos	10		
Tensão x Monomorfismos	10	0,37	0,294
Força de ruptura x Polimorfismos	10		
Força de ruptura x Monomorfismos	10	0,21	0,551
Polimorfismos x Monomorfismos	10	0,00	1,000
GRUPO ED			
Variáveis	n	Coef de correlação de Spearman	Valor de p
Actina sarcomérica x Calponina	15	0,35	0,201
Actina sarcomérica x HHF35	15	0,32	0,248
Actina sarcomérica x Colágeno III	15	0,05	0,860
Actina sarcomérica x Colágeno I	15	-0,05	0,860
Actina sarcomérica x Índice mat colag	15	-0,05	0,860
Actina sarcomérica x Força máxima	15	0,16	0,558
Actina sarcomérica x Tensão	15	0,19	0,495
Actina sarcomérica x Força de ruptura	15	-0,23	0,405
Actina sarcomérica x Polimorfismos	15	-0,27	0,339
Actina sarcomérica x Monomorfismos	15	-0,01	0,985
Calponina x HHF35	15	-0,09	0,761
Calponina x Colágeno III	15	-0,24	0,398
Calponina x Colágeno I	15	0,24	0,398
Calponina x Índice mat colag	15	0,24	0,398
Calponina x Força máxima	15	0,24	0,383
Calponina x Tensão	15	0,24	0,379
Calponina x Força de ruptura	15	0,21	0,443
Calponina x Polimorfismos	15	-0,35	0,194
Calponina x Monomorfismos	15	-0,26	0,347
HHF35 x Colágeno III	15	0,27	0,328
HHF35 x Colágeno I	15	-0,27	0,328
HHF35 x Índice mat colag	15	-0,27	0,328
HHF35 x Força máxima	15	0,03	0,909
HHF35 x Tensão	15	0,02	0,945
HHF35 x Força de ruptura	15	0,15	0,585
HHF35 x Polimorfismos	15	-0,42	0,123

HHF35	x	Monomorfismos	15	0,06	0,844
Colágeno III	x	Colágeno I	15	-1,00	
Colágeno III	x	Índice mat colag	15	-1,00	
Colágeno III	x	Força máxima	15	-0,08	0,771
Colágeno III	x	Tensão	15	-0,13	0,648
Colágeno III	x	Força de ruptura	15	-0,06	0,840
Colágeno III	x	Polimorfismos	15	0,22	0,421
Colágeno III	x	Monomorfismos	15	0,28	0,307
Colágeno I	x	Índice mat colag	15	1,00	
Colágeno I	x	Força máxima	15	0,08	0,771
Colágeno I	x	Tensão	15	0,13	0,648
Colágeno I	x	Força de ruptura	15	0,06	0,840
Colágeno I	x	Polimorfismos	15	-0,22	0,421
Colágeno I	x	Monomorfismos	15	-0,28	0,307
Índice mat colag	x	Força máxima	15	0,08	0,771
Índice mat colag	x	Tensão	15	0,13	0,648
Índice mat colag	x	Força de ruptura	15	0,06	0,840
Índice mat colag	x	Polimorfismos	15	-0,22	0,421
Índice mat colag	x	Monomorfismos	15	-0,28	0,307
Força máxima	x	Tensão	15	1,00	<0,001
Força máxima	x	Força de ruptura	15	0,58	0,023
Força máxima	x	Polimorfismos	15	-0,09	0,751
Força máxima	x	Monomorfismos	15	0,22	0,427
Tensão	x	Força de ruptura	15	0,56	0,029
Tensão	x	Polimorfismos	15	-0,11	0,707
Tensão	x	Monomorfismos	15	0,22	0,438
Força de ruptura	x	Polimorfismos	15	-0,14	0,624
Força de ruptura	x	Monomorfismos	15	0,17	0,541
Polimorfismos	x	Monomorfismos	15	0,62	0,014
GRUPO CE					
Variáveis		n	Coef de correlação de Spearman		Valor de p
Actina sarcomérica	x	Calponina	10	0,49	0,150
Actina sarcomérica	x	HHF35	10	-0,30	0,405
Actina sarcomérica	x	Colágeno III	10	-0,18	0,627
Actina sarcomérica	x	Colágeno I	10	0,10	0,777
Actina sarcomérica	x	Índice mat colag	10	-0,16	0,651
Actina sarcomérica	x	Força máxima	10	0,24	0,511
Actina sarcomérica	x	Tensão	10	0,24	0,511
Actina sarcomérica	x	Força de ruptura	10	0,15	0,676
Actina sarcomérica	x	Polimorfismos	10	-0,32	0,366
Actina sarcomérica	x	Monomorfismos	10	-0,03	0,933
Calponina	x	HHF35	10	-0,03	0,934
Calponina	x	Colágeno III	10	-0,58	0,082
Calponina	x	Colágeno I	10	0,59	0,074

Calponina	x	Índice mat colag	10	0,18	0,627
Calponina	x	Força máxima	10	0,53	0,117
Calponina	x	Tensão	10	0,53	0,117
Calponina	x	Força de ruptura	10	0,59	0,074
Calponina	x	Polimorfismos	10	-0,26	0,466
Calponina	x	Monomorfismos	10	0,34	0,343
HHF35	x	Colágeno III	10	0,21	0,556
HHF35	x	Colágeno I	10	-0,18	0,627
HHF35	x	Índice mat colag	10	-0,15	0,676
HHF35	x	Força máxima	10	0,61	0,060
HHF35	x	Tensão	10	0,61	0,060
HHF35	x	Força de ruptura	10	0,65	0,043
HHF35	x	Polimorfismos	10	0,38	0,278
HHF35	x	Monomorfismos	10	0,21	0,565
Colágeno III	x	Colágeno I	10	-0,99	<0,001
Colágeno III	x	Índice mat colag	10	-0,66	0,038
Colágeno III	x	Força máxima	10	-0,39	0,260
Colágeno III	x	Tensão	10	-0,39	0,260
Colágeno III	x	Força de ruptura	10	-0,44	0,200
Colágeno III	x	Polimorfismos	10	0,23	0,521
Colágeno III	x	Monomorfismos	10	-0,02	0,960
Colágeno I	x	Índice mat colag	10	0,65	0,043
Colágeno I	x	Força máxima	10	0,41	0,244
Colágeno I	x	Tensão	10	0,41	0,244
Colágeno I	x	Força de ruptura	10	0,45	0,187
Colágeno I	x	Polimorfismos	10	-0,23	0,521
Colágeno I	x	Monomorfismos	10	0,00	1,000
Índice mat colag	x	Força máxima	10	0,32	0,365
Índice mat colag	x	Tensão	10	0,32	0,365
Índice mat colag	x	Força de ruptura	10	0,38	0,276
Índice mat colag	x	Polimorfismos	10	-0,08	0,822
Índice mat colag	x	Monomorfismos	10	0,39	0,265
Força máxima	x	Tensão	10	1,00	
Força máxima	x	Força de ruptura	10	0,95	<0,001
Força máxima	x	Polimorfismos	10	0,14	0,696
Força máxima	x	Monomorfismos	10	0,20	0,577
Tensão	x	Força de ruptura	10	0,95	<0,001
Tensão	x	Polimorfismos	10	0,14	0,696
Tensão	x	Monomorfismos	10	0,20	0,577
Força de ruptura	x	Polimorfismos	10	0,02	0,951
Força de ruptura	x	Monomorfismos	10	0,41	0,241
Polimorfismos	x	Monomorfismos	10	-0,02	0,967
GRUPO EE					
Variáveis		n		Coef de correlação de Spearman	Valor de p

Actina sarcomérica	x	Calponina	15	-0,18	0,524
Actina sarcomérica	x	HHF35	15	-0,15	0,594
Actina sarcomérica	x	Colágeno III	15	0,01	0,970
Actina sarcomérica	x	Colágeno I	15	-0,01	0,970
Actina sarcomérica	x	Índice mat colag	15	-0,01	0,970
Actina sarcomérica	x	Força máxima	15	0,46	0,087
Actina sarcomérica	x	Tensão	15	0,19	0,503
Actina sarcomérica	x	Força de ruptura	15	0,51	0,054
Actina sarcomérica	x	Polimorfismos	15	0,18	0,524
Actina sarcomérica	x	Monomorfismos	15	-0,02	0,950
Calponina	x	HHF35	15	0,17	0,550
Calponina	x	Colágeno III	15	0,30	0,271
Calponina	x	Colágeno I	15	-0,30	0,271
Calponina	x	Índice mat colag	15	-0,30	0,271
Calponina	x	Força máxima	15	-0,19	0,499
Calponina	x	Tensão	15	0,14	0,606
Calponina	x	Força de ruptura	15	-0,27	0,334
Calponina	x	Polimorfismos	15	-0,13	0,637
Calponina	x	Monomorfismos	15	-0,16	0,558
HHF35	x	Colágeno III	15	0,20	0,475
HHF35	x	Colágeno I	15	-0,20	0,475
HHF35	x	Índice mat colag	15	-0,20	0,475
HHF35	x	Força máxima	15	0,03	0,930
HHF35	x	Tensão	15	-0,07	0,815
HHF35	x	Força de ruptura	15	0,15	0,594
HHF35	x	Polimorfismos	15	0,11	0,684
HHF35	x	Monomorfismos	15	-0,24	0,390
Colágeno III	x	Colágeno I	15	-1,00	
Colágeno III	x	Índice mat colag	15	-1,00	
Colágeno III	x	Força máxima	15	-0,13	0,657
Colágeno III	x	Tensão	15	0,09	0,751
Colágeno III	x	Força de ruptura	15	0,39	0,156
Colágeno III	x	Polimorfismos	15	0,06	0,846
Colágeno III	x	Monomorfismos	15	0,18	0,511
Colágeno I	x	Índice mat colag	15	1,00	
Colágeno I	x	Força máxima	15	0,13	0,657
Colágeno I	x	Tensão	15	-0,09	0,751
Colágeno I	x	Força de ruptura	15	-0,39	0,156
Colágeno I	x	Polimorfismos	15	-0,06	0,846
Colágeno I	x	Monomorfismos	15	-0,18	0,511
Índice mat colag	x	Força máxima	15	0,13	0,657
Índice mat colag	x	Tensão	15	-0,09	0,751
Índice mat colag	x	Força de ruptura	15	-0,39	0,156
Índice mat colag	x	Polimorfismos	15	-0,06	0,846
Índice mat colag	x	Monomorfismos	15	-0,18	0,511

Força máxima x Tensão	15	0,72	0,003
Força máxima x Força de ruptura	15	0,56	0,028
Força máxima x Polimorfismos	15	0,00	0,987
Força máxima x Monomorfismos	15	0,09	0,761
Tensão x Força de ruptura	15	0,33	0,234
Tensão x Polimorfismos	15	0,11	0,696
Tensão x Monomorfismos	15	0,09	0,748
Força de ruptura x Polimorfismos	15	0,23	0,402
Força de ruptura x Monomorfismos	15	0,20	0,478
Polimorfismos x Monomorfismos	15	0,12	0,660

FIGURA 20 – ESTUDO DE PROVA DE RATO 2, GRUPO CONTROLE SUBGRUPO 90 DIAS DE PÓS-OPERATÓRIO

TESE - MESTRADO - UFPR

Operator name: SERGIO

Sample Identification: 196_04

Test Method Number: 9

HC - UFPR

Test Date: Friday, June 18, 1

Interface Type: 4200

Crosshead Speed: 50.0000 mm/min

Sample Rate (pts/secs): 6.6670

Temperature: 22 C

Humidity (%): 50

Grip Distance: 40.0000 mm

Specimen G. L.: 40.0000 mm

A-02-C

	Load at Max.Load (kgf)	Load/Width at Max.Load (kgf/mm)	Load at Auto. Break (kgf)	Width (mm)	Thickness (mm)	Load at Cursor Point 1 (kgf)
I A-02-C	1.066	0.053	0.479	20.000	2.000	1.063
Mean	1.066	0.053	0.479	20.000	2.000	1.063
S.D.	0	0	0	0	0	0

FIGURA 21 – ESTUDO DE PROVA DE RATO 2, GRUPO CONTROLE SUBGRUPO 90 DIAS DE PÓS-OPERATÓRIO – PARTE II.

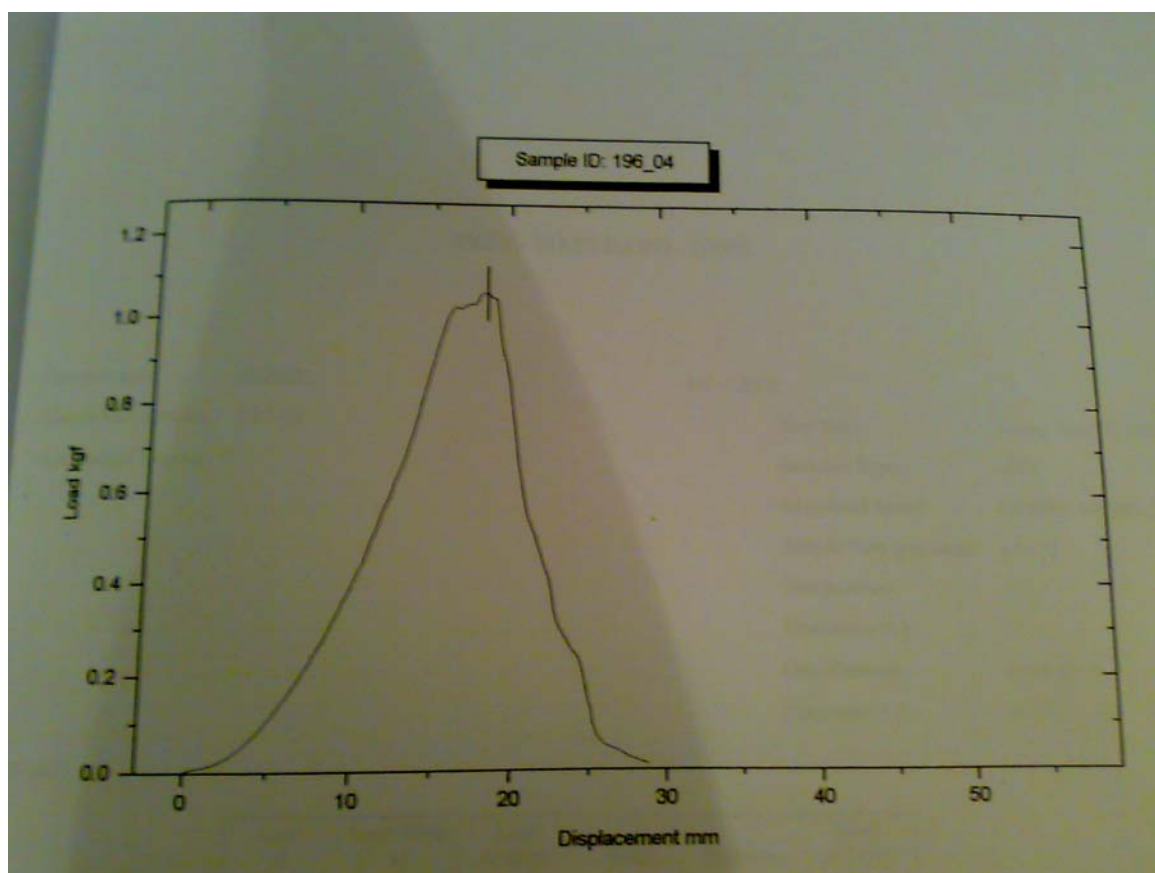


FIGURA 22 – ESTUDO DE PROVA DE RATO 2, GRUPO EXPERIMENTO, SUBGRUPO 180 DIAS DE PÓS-OPERATÓRIO

TESE - MESTRADO - UFPR

Operator name: SERGIO

Sample Identification: 179_04

Test Method Number: 9

HC - UFPR

Test Date: Friday, June 18, 1904

Interface Type: 4200

Crosshead Speed: 50.0000 mm/min

Sample Rate (pts/secs): 6.6670

Temperature: 22 C

Humidity (%): 50

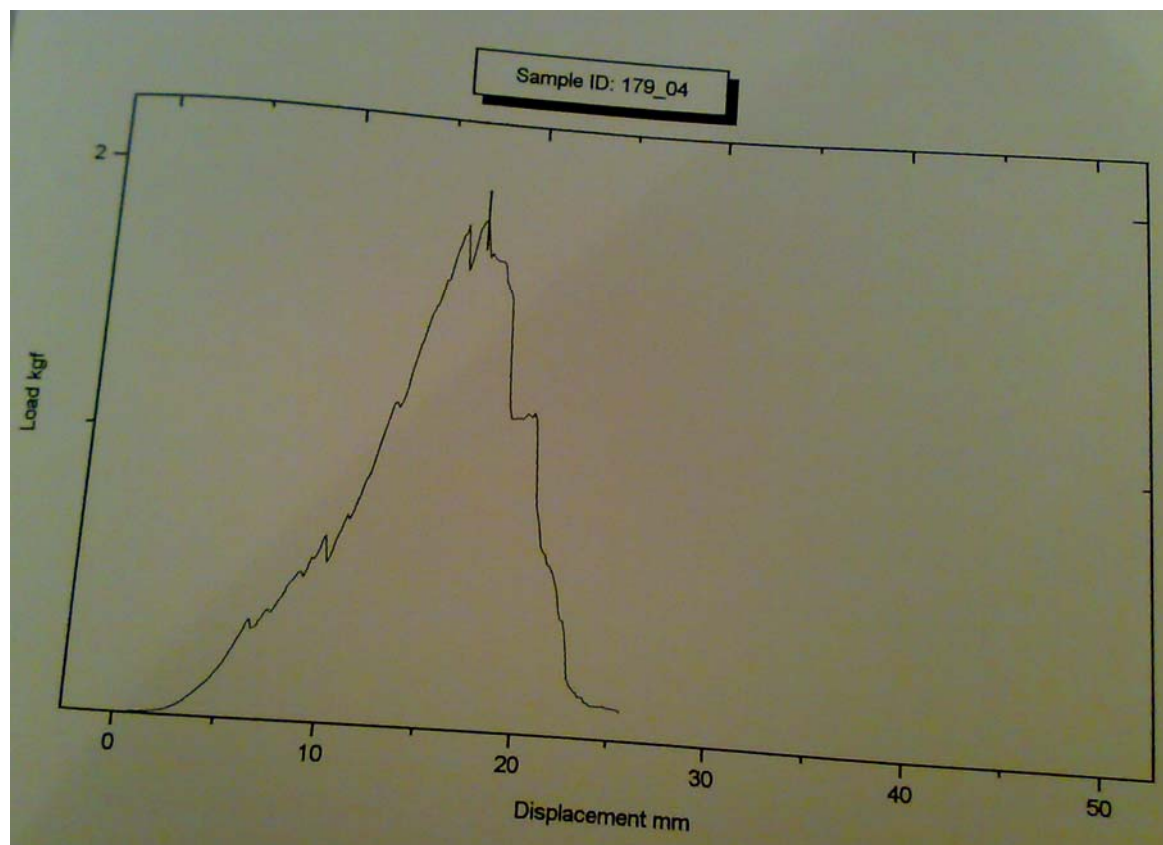
Grip Distance: 40.0000 mm

Specimen G. L.: 40.0000 mm

B-02-E

	Load at Max Load (kgf)	Load/Width at Max Load (kgf/mm)	Load at Auto. Break (kgf)	Width (mm)	Thickness (mm)	Load at Cursor Point 1 (kgf)
1 B-02-E	1.861	0.093	0.660	20.000	2.000	1.860
Mean	1.861	0.093	0.660	20.000	2.000	1.860
S.D.	0	0	0	0	0	0

FIGURA 23 – ESTUDO DE PROVA DE RATO 2, GRUPO EXPERIMENTO, SUBGRUPO 180 DIAS DE PÓS-OPERATÓRIO – PARTE II



*Comitê de Ética em Pesquisa da Sociedade
Evangélica Beneficente de Curitiba*

*Rua Augusto Stelfeld, 1980
80730-000 Curitiba - PR
Fone/Fax: (0xx41) 222-4302*

Curitiba, 08 de agosto de 2005.

Ilma Sra.

Paola M. B. Santis

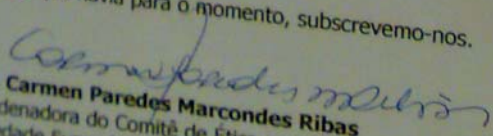
Prezada Colega,

Através do presente, comunicamos a V. Sa. que, em reunião ordinária 04 de agosto de 2005, foi aprovado o projeto de pesquisa o intitulado AVALIAÇÃO DO USO DE ENXERTO HOMÓLOGO CONGELADO DE DIAFRAGMA NA CORREÇÃO DOS DEFEITOS DA PAREDE ABDOMINAL DE RATOS - ESTUDOS HISTOPATOLÓGICO, TENSIO MÉTRICO E DA MORFOMETRIA DO COLÁGENO.

Prevê a legislação que toda a documentação dos projetos poderá, a qualquer momento, ser solicitada para inspeção por parte dos órgãos federais; desta forma, manterá o Comitê arquivo detalhado de cada projeto, arquivando em pasta individual o projeto inicial e relatórios de acompanhamento.

Para o projeto de V. Sa., solicitamos que dê ciência aos seus colaboradores da obrigação de a cada seis meses a partir da data de hoje, encaminhar a este comitê relatório detalhado do andamento do projeto.

Sendo o que havia para o momento, subscrevemo-nos.


Dra. Carmen Paredes Marcondes Ribas
Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa da
Sociedade Evangélica Beneficente de Curitiba

